

Année 1905

THÈSE

N°

POUR LE

DOCTORAT EN MÉDECINE

Présentée et soutenue, le Mercredi 31 Mai 1905, à 4 heures

PAR

PIERRE SAVOURÉ

Licencié ès sciences naturelles
Préparateur à la Faculté des Sciences de Rennes

RECHERCHES EXPÉRIMENTALES

SUR LES

MYCOSES INTERNES ET LEURS PARASITES

PRÉSIDENT : M. R. BLANCHARD, Professeur

JUGES { MM. ROGER, Professeur
TEISSIER, Agrégé
BALTHAZARD, Agrégé

*Le Candidat répondra en outre aux questions qui lui seront faites
sur les diverses parties de l'enseignement médical.*

PARIS

F. R. DE RUDEVAL, IMPRIMEUR-ÉDITEUR

4, RUE ANTOINE DUBOIS, 4, (VI^e)

1905

FACULTÉ DE MÉDECINE DE PARIS

Doyen.	M. DEBOVE.
Professeurs.	MM.
Anatomie.	POIRIER.
Physiologie.	CH. RICHT.
Physique médicale.	GARIEL.
Chimie organique et chimie minérale.	GAUTIER.
Histoire naturelle médicale.	BLANCHARD.
Pathologie et thérapeutique générales.	BOUCHARD.
Pathologie médicale.	{ HUTINEL.
	{ BRISSAUD.
Pathologie chirurgicale.	LANNELONGUE.
Anatomie pathologique.	CORNIL.
Histologie.	MATHIAS DUVAL.
Opérations et appareils.	SEGOND.
Pharmacologie et matière médicale.	POUCHET.
Thérapeutique.	GILBERT.
Hygiène.	CHANTEMESSE.
Médecine légale.	BROUARDEL.
Histoire de la médecine et de la chirurgie.	DEJERINE
Pathologie comparée et expérimentée.	ROGER.
Clinique médicale.	{ HAYEM.
	{ DEBOVE.
	{ DIEULAFOY.
	{ LANDOUZY.
	{ GRANCHER.
Clinique des maladies des enfants.	JOFFROY.
Clinique de pathologie mentale et des maladies de l'encéphale.	GAUCHER.
Clinique des maladies cutanées et syphilitiques.	RAYMOND.
Clinique des maladies du système nerveux.	{ LE DENTU.
	{ TERRIER.
Clinique chirurgicale.	{ BERGER.
	{ RECLUS.
	{ De LAPERSONNE.
Clinique ophtalmologique.	GUYON.
Clinique des maladies des voies urinaires.	BUDIN.
Clinique d'accouchements.	{ PINARD.
	{ POZZI.
Clinique gynécologique.	KIRMISSON.
Clinique chirurgicale infantile.	

Agrégés en exercice.

MM.	DEMELIN.	LAUNOIS.	PROUST.
AUVRAY.	DESGREZ.	LEGRY.	RENON.
BALTHAZARD.	DUPRE.	LEGUEU.	RICHAUD
BRANCA.	P. DUVAL.	LEPAGE.	RIEFFEL. chef
BEZANÇON.	FAURE.	MACAIGNE.	des trav. anat.
BRINDEAU.	GOSSET.	MAILLARD.	TEISSIER.
BROCA (André.)	GOUGET.	MARION.	THIROLOIX.
CARNOT.	GUIART.	MAUCLAIRE.	VAQUEZ.
CLAUDE.	JEANSELME.	MERY.	WALLICH.
CUNEO.	LABBE.	MORESTIN.	
	LANGLOIS.	POTOCKI.	

Par délibération en date du 7 décembre 1798, l'École a arrêté que les opinions émises dans les dissertations qui lui seront présentées doivent être considérées comme propres à leurs auteurs, et qu'elle n'entend leur donner aucune approbation ni improbations.

A LA MÉMOIRE DE MON PÈRE

A MA MÈRE

A MES MAÎTRES

DE LA FACULTÉ DES SCIENCES

ET DE L'ÉCOLE DE MÉDECINE DE RENNES

Hommage de respectueuse reconnaissance et de sincère affection

A MON PRÉSIDENT DE THÈSE

M. le Professeur R. BLANCHARD

MEMBRE DE L'ACADÉMIE DE MÉDECINE

PROFESSEUR A LA FACULTÉ DE MÉDECINE DE PARIS

CHEVALIER DE LA LÉGION D'HONNEUR

Hommage respectueux et reconnaissant



Digitized by the Internet Archive
in 2026

INTRODUCTION

L'étude des lésions anatomiques et des troubles pathologiques provoqués chez l'Homme et les animaux par la présence de Champignons, introduits soit spontanément, soit expérimentalement dans leur organisme a suscité dans ces dernières années, et à juste titre, de très nombreux et très intéressants travaux. En effet, après les découvertes de Pasteur, et sous l'impulsion de ses doctrines, les savants livrés à l'étude des maladies microbiennes envisagèrent surtout celles qui sont produites par des Bactéries, laissant un peu de côté celles qui sont dues à la présence d'un Champignon : les mycoses, ainsi que les avait si bien dénommées Virchow dès l'année 1856. Heureusement, quelques communications curieuses et relativement récentes ont ramené l'attention sur ce sujet déjà vieux de près d'un siècle, puisque la première observation de mycose remonte à 1815 et fut publiée par Mayer (1).

Les mycoses peuvent, au point de vue pratique se diviser en deux groupes : 1^o les dermatomycoses et 2^o les mycoses internes.

Les dermatomycoses sont les mieux connues. Ce serait sortir de mon sujet que d'énumérer la quantité d'excellents travaux parus sur ce sujet depuis la moitié du siècle dernier. Quant à l'histoire des mycoses internes, elle est plus obscure et les travaux actuels font prévoir que le nombre des Champignons capables de produire des lésions anatomo-pathologiques viscérales est plus grand qu'on ne l'a pensé jusqu'ici.

On conçoit facilement combien l'étude des mycoses internes peut présenter d'intérêt spéculatif et aussi de conséquences pratiques, puisque ces affections peuvent simuler à s'y méprendre d'autres affections produites par des Bactéries. Mais il est vraisemblable,

(1) A. C. MAYER, Verschimmelung (*Mucedo*) im lebenden Körper. *Deutsches Archiv für die Physiologie*, I, p. 310, 1815.

comme nous le verrons ultérieurement, que le mécanisme des affections causées par les Bactéries et les Champignons n'est pas le même. Tandis que les Bactéries agissent surtout par les toxines qu'elles sécrètent, poisons solubles qui tuent les cellules d'un organe situé quelquefois fort loin du lieu où végètent ces Bactéries, les Champignons, au contraire, semblent plutôt supprimer la fonction de l'organe en l'envahissant et en altérant par leur mycélium les éléments de ses tissus.

L'étude des mycoses est d'ailleurs une question fort complexe, qu'il serait imprudent d'aborder dans son ensemble; il vaut mieux, me semble-t-il, s'attacher à éclaircir les faits principaux et à les décrire séparément. La synthèse de ces résultats ne pourra être faite que plus tard, lorsque nous posséderons un plus grand nombre de documents relatifs à ce sujet.

Ce sont quelques-uns de ces points que je désire présenter en ce travail, qui comprendra trois parties. Dans la première, je chercherai à donner des figures exactes et des détails précis, relativement à la morphologie des parasites, de façon à faciliter la diagnose des espèces. La deuxième aura trait à la biologie encore peu connue de ces végétaux. Quant à la troisième, elle sera consacrée à l'étude du rôle pathogène, au moyen des inoculations expérimentales et à la description des lésions anatomo-pathologiques chez l'animal.

Les Champignons dont je m'occuperai appartiennent tous aux genres suivants : *Mucor*, *Rhizopus*, *Rhizomucor*, *Aspergillus*. J'apporte la description d'une variété nouvelle de *Rhizopus* voisine du *Rhizopus equinus* de Lucet. Je me suis servi pour les expériences et les inoculations d'une ou plusieurs espèces appartenant à chacun de ces genres, prenant de préférence les plus pathogènes pour le Lapin et le Cobaye, animaux qu'il est facile d'avoir constamment à sa disposition dans un laboratoire.

I. — MORPHOLOGIE

J'ai d'abord observé macroscopiquement et très soigneusement les cultures, dans les différentes conditions de température où elles avaient été placées, en notant chaque jour les progrès du développement du mycélium sur différents milieux nutritifs. Pour l'étude microscopique, j'ai employé deux procédés : 1^o l'examen extemporané après dissociation des filaments mycéliens dans l'acide acétique : 2^o l'étude du Champignon dans la cellule humide, les ensemencements étant faits sur bouillon en goutte pendante, d'une façon aseptique, pour éviter que les Bactéries ne viennent gêner la végétation du mycélium. J'ai observé toutes les cultures chaque jour, quelquefois heure par heure, surtout dans les premiers stades du développement. Toutes les figures que je donne ont été dessinées à la chambre claire.

Je n'ai pas l'intention de m'occuper, dans ce travail, de l'étude systématique des familles auxquelles appartiennent les Champignons que j'ai étudiés. Je me suis contenté d'examiner avec détail quelques espèces plus particulièrement intéressantes au point de vue pathologique, dans le but d'établir leur diagnose aussi rigoureusement que possible. Toutes ces espèces appartiennent aux genres suivants : *Mucor*, *Rhizopus*, *Rhizomucor*, *Aspergillus*.

Genre *Mucor*.

Pour le genre *Mucor*, mes observations ont porté sur les espèces suivantes : *M. racemosus*, *M. corymbifer*, *M. Truchisi* et *M. Regnieri*.

1^o *MUCOR RACEMOSUS* Fresenius, 1850.

Saccardo (1) donne la description suivante du *Mucor racemosus* : « Hyphis sporangiferis septatis, bifurcatis vel irregulariter ramosis, 0,5 — 0,4 cm altis; sporangiis terminalibus, globosis minutis,

(1) P. A. SACCARDO, *Sylloge fungorum omnium hucusque cognitorum*. Pata-vii, 1888; cf. VII, p. 192.

40-68 μ diam., pallide luteis, vix perspicuis, columella ovali; sporis numerosis, globoso-ovoïdeis, 3-8=4-5, hyalinis; zygosporis globosis, episporio flavo brunneo, striato, 70-84 μ diam. »

L'exemplaire que j'ai étudié a des caractères absolument semblables : en effet, arrivé à maturité, il se présente macroscopiquement sous forme de filaments enchevêtrés, formant un duvet blanc très serré à la surface du substratum ; sur ce mycélium s'élèvent des hyphes sporangifères verticales, très peu enchevêtrées ; les sporanges sont d'une couleur gris jaunâtre.

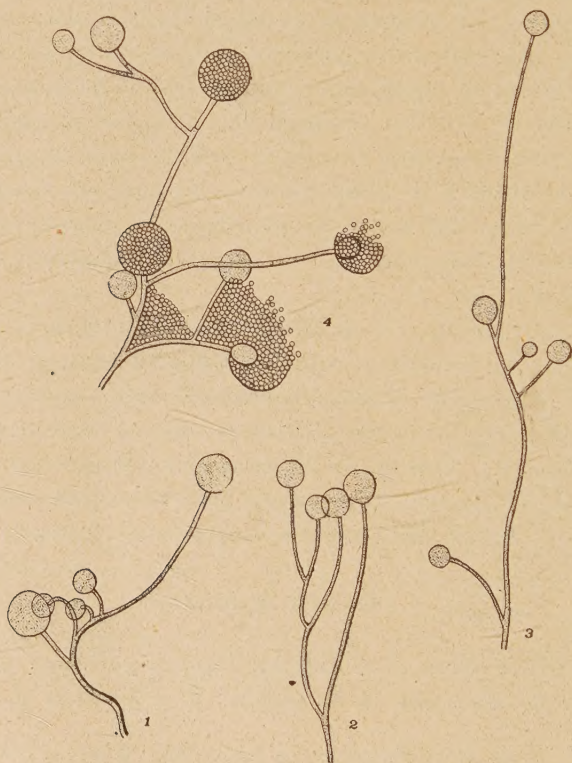


Fig. 1. — *Mucor racemosus*. — 1, 2, 3, divers modes de ramification des hyphes sporangifères; 4, deux sporanges dont la membrane n'est pas encore complètement liquéfiée.

Au microscope, on remarque que le mycélium est formé de filaments enchevêtrés, non anastomosés, ramifiés seulement dans la partie supérieure des pédoncules sporangifères et aux environs des

chlamydospores. Le diamètre de ces filaments varie entre 3μ 2, 6μ et 9μ , suivant l'âge de la culture; ces dimensions ont été mesurées sur une culture en cellule humide sur bouillon, du troisième au cinquième jour après l'ensemencement.

La ramification des hyphes sporangifères est très variable et très irrégulière : quelquefois on ne constate qu'une simple bifurcation ou une trifurcation, mais, dans ce cas, jamais les trois filaments résultant de la division du filament principal ne prennent naissance au même point, en un mot je n'ai jamais vu de ramification en forme d'ombelle ou de corymbe; d'autres fois, assez loin de l'extrémité d'un long filament terminé par un sporange, naissent de nombreux filaments assez courts, terminés eux aussi par un sporange (fig. 1, 1-3).

Les sporanges sont sphériques et de petite taille; le diamètre de ceux que j'ai mesurés varie entre 37μ et 60μ . Ils sont de couleur jaune pâle et la membrane est très peu transparente. Cependant, lorsqu'ils sont arrivés à maturité complète, on distingue facilement les spores à travers la membrane. Cette membrane est diffuente, elle disparaît par liquéfaction lorsque les spores sont mises en liberté, mais elle peut se liquéfier plus rapidement dans une partie quelconque du sporange que dans d'autres; alors quelques spores s'échappent d'abord par cette ouverture, tandis que les autres conservent l'aspect d'une masse sphérique, parce qu'elles sont encore maintenues en place par le reste de la membrane incomplètement liquéfiée. Ceci pourrait donner lieu à une erreur et faire croire à la persistance d'une portion de la membrane et à une sorte de déhiscence poricide (fig. 1, 4). On peut facilement éviter cette erreur en laissant le sporange qui présente cette particularité sous le champ du microscope et en portant le tout à l'étuve à 25° , le lendemain généralement, la membrane est complètement liquéfiée et on voit les spores disséminées irrégulièrement autour de la columelle.

La columelle est ovale, elle mesure 18μ à 30μ en hauteur et 9μ à 15μ en largeur (fig. 2, 5).

Les spores sont ovoïdes; elles mesurent 6 à 8μ de long sur 3 à 6μ de large; elles sont transparentes et très nombreuses (fig. 2, 4-5).

Je n'ai pas observé de zygosporés; par contre, j'ai vu de nombreuses chlamydospores dans les cultures en cellule humide : ces chlamydospores, qui apparaissent surtout dans les cultures âgées

de trois ou quatre jours, sont de forme sphérique avec, quelquefois, un prolongement en forme de boudin; leur diamètre est en général voisin de $20\ \mu$; on voit à l'intérieur de nombreuses granulations protoplasmiques (fig. 3-5).



Fig. 2. — *Mucor racemosus*. — 1, têtes sporifères jeunes; 2, têtes sporifères adultes; 3, têtes sporifères mûres; 4, spores en liberté; 5, une columelle.

Saccardo ne parle pas des chlamydospores. Quant aux figures de ces organes données par les autres auteurs, elles me paraissent n'offrir qu'une idée imparfaite de leur forme et de leur disposition. J'insiste sur ce point, parce que de nombreuses observations m'ont permis de constater les deux principales formes qu'affectent ces chlamydospores. En effet, dans les figures, elles sont généralement représentées sous forme de corps ovoïdes, d'un diamètre à peine supérieur à celui du filament sur lequel elles ont pris naissance; elles sont en outre beaucoup trop rapprochées les unes des autres et affectent une disposition en chapelet. De plus, les auteurs ont toujours omis de représenter le petit prolongement en forme de boudin que possèdent quelques-unes d'entre elles, ainsi que la cloison transversale qui existe assez souvent sur le filament dans leur voisinage (fig. 3, 1 et 5-7).

Après avoir répété ces observations un grand nombre de fois, j'ai conclu que le Champignon que j'avais étudié était bien le *Mucor racemosus*. Ce Cryptogame provient de lésions cutanées observées dans ces dernières années chez un grand nombre de Chevaux d'un régiment de cavalerie d'une armée étrangère.



Fig. 3. — *Mucor racemosus*. — 1-4, chlamydospores sphériques; 5, prolongement en forme de boudin; 6, chlamydospore terminant un filament; les autres dessins représentent diverses formes de ces organes.

Les poils de ces animaux, examinés au microscope, ne présentaient pas de lésions trichophytiques. Ensemencés en milieu

stérile, ils n'ont donné comme culture de Champignon que le *Mucor racemosus*; mais il ne s'ensuit pas que la présence de ce Champignon dans les lésions observées sur les animaux en question soit la cause de la maladie. En effet, s'il n'existe aucun doute sur l'existence de ce Cryptogame comme parasite dans le conduit auditif externe, par exemple dans les cas d'otomycose, son rôle pathogène comme producteur de mycoses internes reste encore à démontrer, me semble-t-il, quoique Bollinger cite un certain nombre de mycoses de l'appareil respiratoire chez les Oiseaux, dues à ce Champignon (1). Les inoculations de spores de *Mucor racemosus* que j'ai pratiquées sur le Lapin et sur le Cobaye ont toujours été négatives; ce qui tient, je crois, à ce qu'il y a trop de différence entre la température optima, qui est de 25° pour ce Champignon, et celle du sang des animaux mis en expérience, qui est de 38° au moins pour le Lapin et le Cobaye et certainement supérieure pour les Oiseaux que cite Bollinger. Le *Mucor racemosus*, qui végète très bien à 25°, produit à peine quelques filaments mycéliens à 37°, sur les milieux nutritifs qui lui sont le plus favorable. On peut en conclure qu'il lui est difficile, sinon impossible, de végéter dans des organes qui sont à une température d'au moins 37°, au milieu desquels il se trouve constamment en lutte avec les phagocytes. Ainsi son rôle comme producteur de lésions paraît devoir être écarté.

2° *MUCOR CORYMBIFER* Lichtheim, 1882.

Voici la diagnose de ce Champignon telle que la donne Saccardo : « Mycelio niveo demum pallide griseo, hyphis mycelicis in substrato vel per aerem exeuntibus, hyalinis; hyphis sporangiferis non erectis (verticalibus), racemose ramosis, apice 1-12 sporangia racemosa gerentibus; sporangiis etiam maturitate hyalinis, piriformibus, majoribus usque ad 70 μ . diam, mediis 35-60 μ ; minoribus 10-20 μ . Tunica levi hyalina; columella conica, sursum expansa, subinde papillata, brunneola; sporis ellipticis 3 = 2, hyalinis. »

L'exemplaire dont j'ai utilisé les spores pour les inoculations m'a été communiqué par Lucet. Ses caractères sont les mêmes que ceux que donne Saccardo. Les spores, toutes de forme ovoïde,

(1) BOLLINGER, Ueber Pilzkrankheiten höherer und niederer Thiere. *Aerztliches Intelligenz-Blatt.*, Heft 9-11, 1880.

dont j'ai pris les dimensions, mesuraient en moyenne $9\ \mu$ de long sur $6\ \mu$ de large. Il faut aussi signaler une particularité des chlamydospores: ces organes, dont le diamètre oscille aux environs de $35\ \mu$, peuvent affecter deux formes différentes :

1° La chlamydospore se présente sous forme d'une verrue pédiculée, à protoplasma homogène, naissant sur un filament mycélien non loin de son extrémité.

2° L'organe prend naissance au point de bifurcation d'un filament; en ce cas, une portion du protoplasma est très homogène, tandis que l'autre peut-être creusée de vacuoles. Les filaments mycéliens sont toujours assez grêles (7 à $8\ \mu$ de diamètre), on constate souvent des vacuoles dans leur protoplasma. -

3° *MUCOR TRUCHISI* Lucet et Costantin, 1901.

Le *Mucor Truchisi*, qui, par ses caractères généraux, se rapproche beaucoup du *Mucor corymbifer*, en diffère cependant par certains détails dont l'importance a permis à Lucet et Costantin d'en faire une espèce nouvelle. Je ne puis donc ici que résumer en quelques lignes les principaux caractères du Champignon, que ces auteurs ont décrit avec tant de soin (1).

Le Champignon a été isolé de croûtes épidermiques provenant d'un Cheval atteint d'une teigne produite par le *Trichophyton minimum*.

Lucet et Costantin font remarquer judicieusement que le *Mucor Truchisi* ne jouait probablement aucun rôle pathogène dans la lésion. On pourrait rapprocher cette observation de celle que j'ai faite plus haut à propos de la présence du *Mucor racemosus* dans des lésions cutanées observées sur les Chevaux d'un régiment de cavalerie. Macroscopiquement, les cultures sur les milieux solides d'un usage habituel se présentent sous forme de filaments blanc grisâtre, qui deviennent légèrement bruns quand la culture vieillit. La culture devient rapidement grisâtre, dans la partie qui est en contact avec l'air.

Dans les tubes de pomme de terre, le mycélium se dirige vers le compartiment inférieur et ne tarde pas à l'envahir complètement.

(1) Ad. LUCET et COSTANTIN, Contributions à l'étude des Mucorinées pathogènes. *Archives de Parasitologie*, IV, p. 262, 1901.

L'extrémité terminale des hyphes est en forme de corymbe, tendant fréquemment à prendre la forme d'ombelle, par suite de l'allongement exagéré des filaments les plus extérieurs. La membrane des sporanges est translucide, sans ornements; les sporanges sont sphériques. La columelle est piriforme, colorée en brun. Les spores sont ovoïdes, un peu allongées.

Les dimensions des différents organes de ce Champignon sont les suivantes : pédicelles, 2 à 7 μ de diamètre; sporanges, 33 μ de diamètre; columelles, de 20 μ à 30 μ de large; spores, 4 μ de long sur 2 μ 5 de large.

4^o MUCOR REGNIERI Lucet et Costantin, 1901.

Le *Mucor Regnieri* est voisin du *Mucor Truchisi*, cependant les différences qui existent entre ces deux Champignons sont assez importantes pour que Lucet et Costantin aient cru bon d'en faire deux espèces.

Le feutrage formé par le mycélium du *Mucor Regnieri* est moins serré que celui du *Mucor Truchisi*, par contre la fructification s'étend dans toute la longueur du tube, aussi la couleur de la culture est-elle uniformément grisâtre. De plus la culture n'envahit pas le compartiment inférieur des tubes de pomme de terre.

Genre *Rhizopus*.

Dans le genre *Rhizopus*, j'ai étudié deux variétés d'une même espèce.

1^o RHIZOPUS EQUINUS Costantin et Lucet, 1903.

L'exemplaire que j'ai étudié est typique, il m'a été communiqué par Lucet. Je ne ferai donc que reproduire la diagnose de ce Champignon, telle que l'ont établie Costantin et Lucet (1) : « Champignon présentant au début des pédicelles simples d'ordinaire sans rhizoïdes, droits ou courbés, et plus tard des bouquets de pédicelles fréquemment (mais pas toujours) pourvus de rhizoïdes. Cutinisation ocracée pâle des pédicelles. Columelle de teinte pâle. Spore arrondie, quelquefois un peu anguleuse, lisse, 4 μ . Espèce pourvue de chlamydospores. »

(1) COSTANTIN et LUCET, Sur un *Rhizopus* pathogène. *Bulletin de la Société mycologique de France*, XIX, p. 200, 1903.

Ce Champignon présente les particularités suivantes, que j'ai toutes constatées et qui correspondent bien à la description de Costantin et Lucet. Sur milieu solide, le mycélium, d'abord blanc et floconneux, donne de petites têtes noires correspondant à des sporanges situés au sommet de pédicelles très courts. La culture prend alors un aspect grisâtre, puis les filaments situés au-dessus du substratum prennent un plus grand développement; ils s'entremêlent et forment un feutrage épais, qui finit par remplir le tube de culture. Si la culture a été faite dans un matras à fond plat, ce feutrage peut avoir jusqu'à plus de 2^{cm} d'épaisseur. En vieillissant, la culture prend une teinte brune ocreuse et s'affaisse sur le substratum.

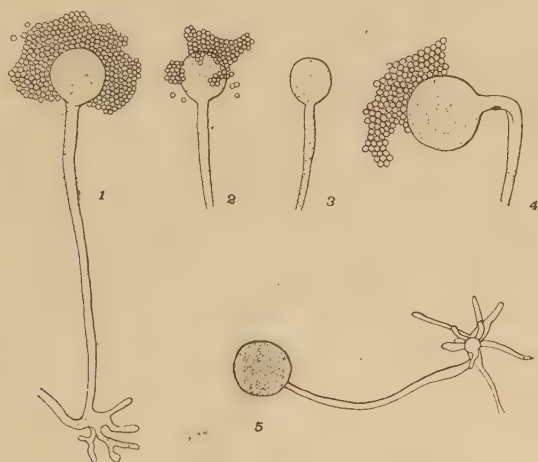


Fig. 4. — *Rhizopus equinus*. — 1-4, columelles de formes et de dimensions différentes, après la mise en liberté des spores; 5, une hyphe sporangifère âgée de cinq jours.

Les différents organes de ce Champignon que j'ai mesurés avaient les dimensions suivantes : le diamètre des filaments mycéliens varie entre 8μ et 12μ , les sporanges de forme sphérique ont en général leur diamètre compris entre 60μ et 70μ , les columelles sont sphériques ou subsphériques : elles mesurent de 20μ à 50μ de diamètre (fig. 4). Le plus souvent ces columelles ne sont pas exactement sphériques et le plus grand diamètre est toujours le diamètre transversal, c'est à-dire le diamètre perpendiculaire à

l'axe de l'hyphe sporangifère, les spores ont un diamètre qui varie entre $4\ \mu$ et $8\ \mu$ (fig. 4, 1). Les chlamydospores sont très nombreuses dans les cultures en cellule humide, surtout à la température de 37° et vers le troisième jour après l'ensemencement ;

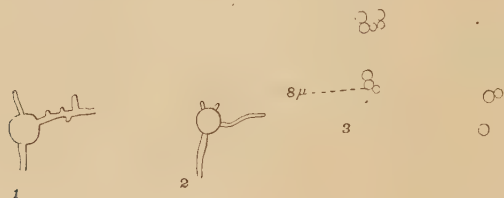


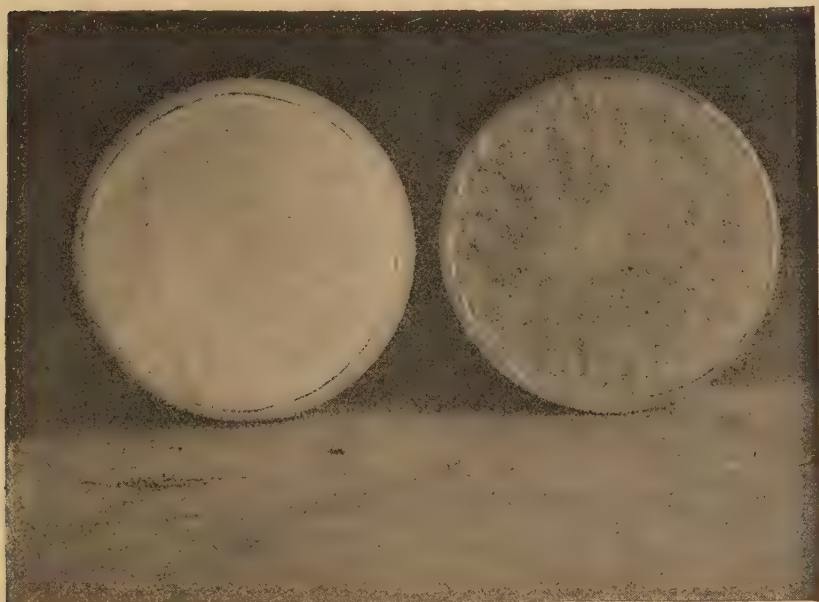
Fig. 5. — *Rhizopus equinus*. — 1, 2, chlamydospores dans une culture âgée de trois jours ; 3, spores.

elles se trouvent pour ainsi dire constamment au sommet d'un angle droit formé par un coude brusque du mycélium, elles sont sphériques et donnent un ou deux filaments très courts, rampant à la surface du substratum ; leur protoplasma est granuleux et le filament mycélien qui leur a donné naissance produit assez souvent dans leur voisinage quelques filaments analogues à ceux qui donnent les chlamydospores (fig. 5, 1).

2^o RHIZOPUS EQUINUS var. α .

Cette espèce a été isolée d'un moût de pommes au laboratoire de bactériologie de l'Ecole de médecine de Rennes. Elle se rapproche beaucoup du *Rhizopus equinus* par certains caractères morphologiques, en diffère notablement par ses caractères biologiques : en effet, si on sème le même jour deux matras de moût de bière gelosé, l'un avec le *Rhizopus equinus* type, l'autre avec le *Rhizopus equinus* α et qu'on les place à l'étuve à 37° , au bout de deux jours on peut constater que le *Rhizopus equinus* donne à peine quelques filaments rampants à la surface du substratum, tandis que le mycélium du *Rhizopus equinus* α se présente déjà sous forme d'un léger duvet floconneux blanc. Au quatrième jour, la différence s'accroît encore plus ; le *Rhizopus equinus* α commence déjà à produire des têtes sporangifères grises, alors que le *Rhizopus equinus* est encore à l'état de duvet blanc. Les jours suivants, la différence entre les deux espèces s'accroît encore : en effet

tandis que le *Rhizopus equinus* se présente sous forme d'un duvet blanc, quelquefois haut de plus de deux centimètres et à peine sporulé, le *Rhizopus equinus* α , au contraire, reste affaissé à la surface du substratum et prend rapidement une teinte gris foncé, due à la présence de nombreux sporanges complètement développés (fig. 6).



1

2

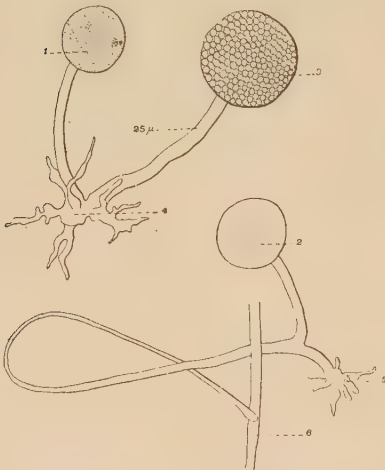
Fig. 6. — 1, *Rhizopus equinus*; 2, *Rhizopus equinus* α . — Cultures sur moût de bière gélosé âgées de huit jours.

Au point de vue morphologique, les rhizoïdes sont bien développés; souvent les sporanges naissent à l'extrémité d'un filament recourbé en forme de boucle et prenant naissance en un point quelconque du mycélium (fig. 7). Le diamètre des filaments mycéliens varie entre 15 et 25 μ . Les sporanges sont sphériques, leur diamètre est de 35 à 70 μ (fig. 7, 1; fig. 8, 2-3); la déhiscence se fait par liquéfaction progressive de la membrane. Les columelles sont sphériques ou presque, leur diamètre oscille entre 20 et 50 μ (fig 9). Les spores sont sphériques, variant entre 5 et 7 μ de diamètre. Les chlamydospores naissent en général sur de petits diver-

ticules du filament mycélien principal (fig. 10, 1-2); elles sont en général sphériques et présentent quelquefois un ou plusieurs petits



Fig. 7. — *Rhizopus equinus* α. — 1, un jeune sporange naissant à l'extrémité d'un long filament recourbé; 2, 3, rhizoides; 4, thalle.



Eig. 8. — *Rhizopus equinus* α. — 1, 2, sporanges jeunes; 3, sporange à maturité; 4, 5, rhizoides; 6, thalle.

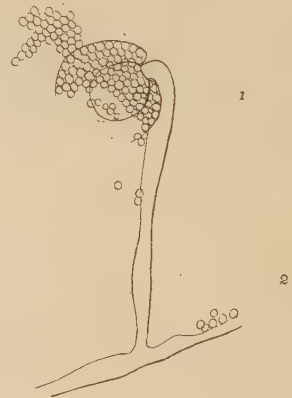


Fig. 9. *Rhizopus equinus* α. — Sporange en voie de déhiscence; 1, columelle; 2, spores.

prolongements en forme de boudin (fig 10, 1); d'autres fois, elles sont allongées et se présentent simplement sous forme de renfle-

ments du mycélium, à protoplasma fortement granuleux (fig. 10, 2). Leurs dimensions varient entre 20 et 40 μ . On remarque rare-



Fig. 10. — *Rhizopus equinus* z. — 1-4, chlamydospores sphériques en différents points du mycélium ; 5, chlamydospores oblongues.

ment la présence de cloisonnements sur le filament mycélien aux environs des chlamydospores.

Genre *Rhizomucor*.

Dans ce genre, qui ne fut d'abord qu'une simple section créée dans le genre *Mucor* par Lucet et Costantin, j'ai étudié une seule espèce, le *Rhizomucor parasiticus*, décrit en 1900 par ces auteurs (1).

(1) LUCET et COSTANTIN, *Rhizomucor parasiticus*, espèce pathogène de l'Homme *Revue générale de botanique*, XII, p. 81, 1900.

C'est Gedoelst qui a élevé cette section à la hauteur d'un genre, en raison de son nom spécial, qui indique bien ses caractères transitoires entre les genres *Mucor* et *Rhizopus*.

RHIZOMUCOR PARASITICUS Lucet et Costantin, 1900.

Cet exemplaire typique m'a été communiqué par Lucet, qui donne de cette espèce la diagnose suivante, que je reproduis textuellement :

« *Rhizomucor*. — Section nouvelle du genre *Mucor*. Mucorée à stolons et à rhizoïdes irréguliers et à pédoncules fructifères ramifiés; columelle entourée à la base de débris de membrane du sporange, cette dernière s'insérant en haut du pédoncule.

« *Rhizomucor parasiticus*. — Espèce nouvelle gazonnante, de couleur brun fauve, grisâtre, gris de plomb ou gris de souris. Pédoncules fructifères de 12 à 14 μ de large sur 1 à 2 cm de long, le plus souvent en grappe simple ou corymbe, seulement au sommet sur une longueur de 300 μ ; sporanges de 80 à 37 μ , columelle ovoïde, piriforme, cutinisée, légèrement brunâtre, de 70 à 30 μ de haut, sporanges latéraux semblables, mais plus petits. Pédicelles rarement une deuxième fois ramifiés. »

Ce qui différencie le genre *Rhizopus* du genre *Mucor*, c'est que les stolons rampants, qui permettent à ces Cryptogames d'envahir très rapidement la surface des milieux nutritifs, présentent de place en place, dans le premier genre, des digitations en forme de racine qui s'enfoncent dans le substratum : ce sont les rhizoïdes. C'est aux points où se trouvent ces rhizoïdes que s'élèvent les hyphes ou filaments sporangifères; de plus, le pédoncule fructifère ne se ramifie pas. Dans le genre *Mucor*, au contraire, les pédoncules fructifères sont quelquefois très ramifiés, mais, par contre, on ne trouve pas de rhizoïdes. Le Champignon décrit par Lucet et Costantin présente des caractères communs à ces deux genres : il a des rhizoïdes comme les *Rhizopus*, mais il a des pédoncules fructifères ramifiés comme les *Mucor*; c'est ce qui leur a permis, à juste titre, d'en faire une espèce nouvelle sous le nom de *Rhizomucor parasiticus*. En effet, ce Champignon est essentiellement parasite, il tue rapidement les Lapins et les Cobayes auxquels on l'inocule et il est même nocif pour l'Homme, car il a été isolé par Lucet des crachats d'une ma-

lade soignée par le Dr Lambry, de Courtenay (Loiret), malade qui présentait à l'auscultation des signes évidents de tuberculose pulmonaire.

Je cite ici l'observation de cette malade, telle qu'elle est consignée dans le travail de Barthelat (1), d'abord à cause de sa date récente et ensuite par ce qu'elle fait prévoir que les mucoromycoses ne sont peut être pas si rares qu'on est porté à le croire.

« Madame N. A..., 30 ans, mariée, pas d'enfants, malade depuis dix-huit mois, a subi sans succès divers traitements pour une maladie dite d'estomac ; de taille moyenne, plutôt maigre, peu colorée, physionomie mobile, agitée par un tic des paupières et un spasme des commissures des lèvres, regard fuyant, aspect hystérique ;

Régulièrement réglée, sujette au moment de ses époques à des poussées congestives de la face ;

Cinquième enfant de père et mère vivants et bien portants, a perdu une sœur mariée, morte à 35 ans de tuberculose à marche rapide, les autres enfants n'ont aucune tare apparente ;

Pendant l'hiver 1889, cette femme est tombée à l'eau : il en serait résulté un gros rhume guéri sans aucun traitement ;

De 1889 à 1893 n'a plus jamais toussé ;

En avril 1893, à la suite d'une violente émotion, Madame N. A..., ayant dû accomplir un long trajet, à pied, la nuit, dans la neige, a été prise de vertiges, d'étouffements, de palpitations ;

Lentement l'appétit a disparu, faisant place à un état nauséux persistant, avec sensation de pesanteur à l'épigastre ;

La toux apparaît en juin 1893, le matin seulement ; elle est sèche, quinteuse accompagnée d'une expectoration très rare ;

A aucun moment de sa maladie, Madame N. A... n'a eu de frissons, de sueurs ni de fièvre ;

La malade accuse une gêne récente en avant, du côté droit de la poitrine, entre la clavicule et le sein ;

Elle souffre d'une douleur spontanée au niveau du bord spinal de l'omoplate du même côté ;

Elle définit ainsi la gêne qu'elle éprouve : c'est un chatouillement continu, « quelque chose qui m'aiguillonne dedans », et elle porte la main au-dessus du sein droit ;

Quelques mois plus tard, ces mêmes symptômes s'étendront à la même région du côté gauche ;

Pas d'enrouement : le pharynx et l'amygdale droite sont le siège d'une rougeur diffuse peu intense, pas de granulations pharyngées ;

(1) G. J. BARTHELAT, Les Mucorinées pathogènes et les mucoromycoses, chez l'Homme et les animaux. *Archives de Parasitologie*, VI, 1903.

Cette malade n'a jamais eu d'épistaxis ni d'hémoptysie, même à l'époque des congestions menstruelles qui lui causent des bouffées de chaleur à la face.

La langue est étalée, saburrale, l'appétit capricieux ; les quintes de toux du matin occasionnent des nausées qui ne se reproduisent jamais dans la journée ; la dentition est en bon état.

A la percussion, pas de modification appréciable de l'élasticité ni de la sonorité.

A l'auscultation, à droite, dans le tiers supérieur, l'inspiration est rude, nettement saccadée, divisée en deux temps égaux ; l'expiration est à peine perceptible et n'est pas sensiblement prolongée.

Quelques sibilances se font entendre en avant ; quelques râles fins, secs, à l'inspiration seulement, en arrière, entre l'angle supérieur de l'omoplate et la gouttière vertébrale.

Je constate en avant et en arrière, à droite, une pectoriloquie aphone manifeste ; elle existe également à gauche, mais moins accentuée et de ce côté ne s'entendent ni râles ni sibilances.

Les crachats sont rares, expulsés le matin seulement par quelques quintes de toux qui n'ont lieu ni le jour ni la nuit ; ils sont compacts, très mobiles, faits de mucus dense, peu aérés, et colorés par de petits ilots d'un gris bleu pâle.

Ces symptômes, rapprochés des antécédents héréditaires, imposent l'idée d'une tuberculisation à marche lente, accompagnée de troubles gastriques chez une névropathe.

Cependant, la toux se manifeste le matin seulement, elle est suivie de 'expulsion de crachats très rares et d'un aspect et de coloration insolite.»

Le Dr Lambry s'adresse à Lucet pour l'examen microscopique et la recherche du Bacille de la tuberculose. Les examens sont négatifs pour le Bacille de Koch, mais décèlent la présence de spores et de fragments de mycélium. Les crachats,ensemencés sur le liquide de Raulin, donnent à plusieurs reprises des cultures de *Rhizomucor parasiticus*. Le Dr Lambry termine ainsi son observation : « Les crachats recueillis fréquemment, parfois en ma présence, dans des tubes stérilisés, bouchés à l'ouate, et restant négatifs quant au Bacille de Koch, le traitement n'aura plus en vue que le *Mucor*, toujours très abondant, et l'état de neurasthénie. »

L'iodure de potassium administré au début, étant mal toléré, il fallut y renoncer et le remplacer par diverses préparations arsénicales : granules d'arséniate de soude, d'acide arsénieux, sirop de phosphate de chaux arsénié, liqueur de Fowler ; préparations associées aux amers et à l'hémoneurol Cognet, jusqu'au retour de l'appétit et au relèvement de l'état général.

Lente au début, l'amélioration s'accrut après deux mois de tâtonnements ; l'appétit revint, la toux fut moins quinteuse, plus rare, les crachats perdant progressivement leur coloration vert bleuâtre.

La malade, en décembre, pesait 49 kilos; elle atteignait 54 kil. 500 et et 58 kil. enfin;

Elle se remit à l'ouvrage qu'elle avait abandonné depuis plusieurs années.

A la fin de juin, je recueillis plusieurs crachats très teintés de noir, M. A. Lucet n'y trouva que des particules de charbon et de très rares filaments très grêles de *Mucor*.

En juillet, l'état de la respiration peut être considéré comme satisfaisant, les bruits anormaux ont entièrement disparu et la pectoriloquie aphone n'est plus perceptible.

Non seulement la malade suffit aujourd'hui aux soins de sa maison, mais elle a repris l'alimentation habituelle de nos campagnes. »

Genre *Aspergillus*.

J'ai employé pour les inoculations trois espèces d'*Aspergillus* : 1^o *A. fumigatus*, 2^o *A. oryzae*, 3^o *A. sulphureus*.

Je n'ai pas étudié la morphologie de ces trois espèces, qui m'ont été communiquées par M. Lucet. Je me contente de reproduire ici la diagnose de l'*Aspergillus fumigatus*, d'après Saccardo :

ASPERGILLUS FUMIGATUS. — « *Hyphis sterilibus parvis; fertilibus assurgentibus, cylindricis, 1/6-13^{mm} long., sursum sensim crassioribus, fumoso griseis; vesicula sphæroidea, 16/30 μ . diam., basidiis crebris radiantibus subfuligineis; conidiis sphæricis, levibus, 2,5 μ . diam., viridulis.*

Hab. In lingua humana et in pulmonibus Otidistardæ in Germania (1).

En effet, ce Champignon se trouve souvent dans des lésions pulmonaires à type tuberculiforme observées chez les Oiseaux ou chez les personnes qui vivent en contact avec certaines espèces de ces animaux, les gaveurs de Pigeons par exemple. D'ailleurs, et c'est ce qui est le plus intéressant, l'origine saprophytique de l'aspergillose ne fait aucun doute aujourd'hui, car on sait que les spores d'*Aspergillus fumigatus* se rencontrent fréquemment sur les graines dont se nourrissent les Oiseaux et aussi sur les pailles et fourrages que manipulent tous les jours les gens qui sont chargés du soin des animaux de basse-cour. Tout cela a été démontré par Rénon (2).

(1) SACCARDO, *Sylloge Fungorum*, IV, p. 65.

(2) RÉNON, *Études sur l'aspergillose chez les animaux et chez l'Homme*. Paris, 1897.

II. — ETUDE BIOLOGIQUE

L'étude de la biologie des Champignons qui font l'objet de ce mémoire m'a retenu assez longtemps, à cause de son importance. J'ai d'abord recherché quelle était la température la plus favorable au développement de chaque espèce, non pas que j'aie eu l'intention de déterminer l'optimum de température à un degré près ; je voulais seulement voir si cet optimum était voisin de la température normale du Lapin et du Cobaye, animaux sur lesquels j'ai pratiqué les inoculations. Pour cela, j'aiensemencé des spores provenant de cultures récemment et abondamment sporulées sur un bouillon artificiel qui convient bien à ces Champignons. J'expliquerai plus tard pourquoi j'ai abandonné l'usage du bouillon de bœuf, qui m'avait donné, au début, des résultats si satisfaisants en apparence. Ce bouillon artificiel se compose de 100^{ème} d'eau, 1 gr. de peptone sèche et 3 gr. de glycérine.

Les ensemencements sont faits à la surface du liquide, dans des matras à fond plat, de même forme et de même contenance, pour que les dimensions des cultures soient les mêmes. Je mets dans chaque matras 50^{ème} de milieu nutritif, et je stérilise à l'autoclave à 115° pendant un quart d'heure. Les ensemencements étant faits, les cultures de chaque Champignon sont mises à l'étuve à une température déterminée, puis pesées après un certain temps, ce temps étant toujours le même pour chaque espèce cryptogamique et pour chaque série d'expériences. Ensuite, j'effectue les pesées de la façon suivante : chaque culture est filtrée et lavée à l'eau distillée sur un filtre, préalablement séché à l'étuve à 100° et taré au dixième de milligramme, puis placée à l'étuve à 100° et pesée de nouveau. Je crois qu'il est très important, pour obtenir des résultats comparables, de dessécher les filtres et les cultures avec le plus grand soin, car, lorsqu'il s'agit d'apprécier des différences de quelques milligrammes ou même moindres, on voit combien la présence d'une petite quantité d'eau, si minime soit-elle, peut être une cause d'erreur.

Il faut aussi prendre plusieurs matras pour une même expérience ; de cette façon, en établissant la moyenne d'après un plus grand nombre de matras, on atténue les erreurs inhérentes à ces sortes d'expériences, erreurs qu'il est impossible d'éviter et qui viennent

de ce qu'on mesure difficilement la quantité de spores ensemencées, ensuite de ce que toutes les spores, ou une partie d'entre elles, peuvent tomber au fond du liquide et par conséquent germer moins vite que celles qui surnagent. La série de cultures qui donne le poids de culture le plus élevé répond vraisemblablement à la température optimum.

L'étude des milieux nutritifs les plus favorables au développement des Champignons intéresse au plus haut point l'expérimentateur, car elle permet de composer un milieu tel qu'il est possible d'obtenir en un temps très court une culture abondamment sporulée et végétant dans les meilleures conditions. J'ai d'abord utilisé les milieux les plus usuels, tels que bouillon de bœuf, lait, pomme de terre, carotte, chou, etc. ; puis j'ai additionné le bouillon de saccharose, glycose, acide tartrique, soude, etc. Puis, il faut déterminer quelle quantité de ces différentes substances il faut employer pour obtenir une végétation très abondante. Pour cette dernière étude, j'ai évité de me servir du bouillon de bœuf, préférant un bouillon artificiel à base de peptone et voici pourquoi : au début de mes expériences, je me servais de bouillon de bœuf. Or, ayant répété par hasard la même expérience, pour le même Champignon, expérience qui consistait en la recherche du poids de culture sur bouillon additionné de saccharose à raison de 3 gr. pour 100, après un temps déterminé, les résultats furent très comparables pour les trois matras employés dans chaque série, mais entre les deux séries la différence des poids de culture était tellement considérable (1 gr) que je renonçai immédiatement à l'usage de ce bouillon qui, quoique préparé toujours de la même façon, présente forcément une composition chimique variable. Toutefois, si l'on veut obtenir seulement une culture très abondante, il faut employer le bouillon de bœuf ; au contraire, si l'on veut effectuer des pesées, il faut employer le bouillon artificiel à base de peptone qui, s'il donne des cultures de poids moins considérables, fournit certainement des résultats plus comparables entre eux.

Voici la formule de ce bouillon : eau 1000 gr. ; peptone 10 gr. ; chlorure de sodium 2 gr. 50.

On y ajoute une quantité déterminée de la substance nutritive à expérimenter, puis on stérilise le liquide obtenu comme le bouillon de bœuf.

J'ai cherché ensuite à mettre en évidence la valeur nutritive de certains aliments, en opérant par la méthode des pesées comme pour l'étude de la température optima, en employant le bouillon artificiel à base de peptone d'abord pur et neutralisé, puis additionné de soude, d'acide tartrique, de glycérine, de glycose, de saccharose, de maltose et de lactose. Je me suis servi aussi du lait sur lequel les différentes espèces végètent très bien. Quant au liquide de Raulin, il ne m'a donné que des résultats très médiocres, sauf pour l'*Aspergillus niger*.

Les Champignons qui consomment des aliments si variés doivent produire des diastases capables de les transformer pour les rendre assimilables. J'avais songé à démontrer la présence de quelques-unes de ces diastases et à mesurer leur activité, d'après la quantité d'aliment transformée pendant un temps déterminé ; j'ai dû me borner à étudier la production de sucrase et de caséase par quelques espèces, réservant l'étude d'autres diastases pour un travail ultérieur.

Sucrase. — Il est facile de prouver qu'un Champignon consomme de la saccharose, et de déterminer, dans le milieu nutritif, la quantité de sucre disparue au bout d'un certain temps, ce qui revient à mesurer grossièrement l'activité de la diastase. Je fais usage d'une solution stérilisée composée de : eau 1000 gr. ; peptone 10 gr. , sucre candi 30 gr. J'ensemence les spores du Champignon à la surface de matras de même forme, placés pendant un même temps à l'optimum de température pour chaque espèce cryptogamique, chaque matras contenant exactement cinquante centimètres cubes de solution mesurés au matras jaugé. Il faut avoir soin de conserver un matras témoin pour doser exactement la quantité de sucre candi contenue dans le liquide. Le moyen le plus simple pour faire ce dosage est d'intervertir d'abord le sucre candi dans la liqueur, en la faisant bouillir pendant dix minutes, après addition d'un centimètre cube d'acide chlorhydrique ; on laisse refroidir, puis on ajoute de l'eau distillée pour remplacer l'eau perdue par évaporation et on dose le sucre interverti avec la liqueur de Fehling. On répète la même opération sur le liquide de culture ; après un temps voulu, la quantité de sucre contenue dans le matras témoin et dans celui de l'expérience donne la quantité de sucre consommée par le Champignon.

Caséase. — Il faut d'abord se rendre compte si le mycélium se développe sur le lait. Je prends donc du lait de Vache écrémé à la centrifugeuse, j'en mets 50^{ème} dans des matras à fond plat, que je stérilise à 115° pendant une demi-heure; j'ensemence ensuite les Champignons et je place les matras dans l'étuve, à la température optima pour chaque espèce.

Je note ensuite jour par jour les caractères de la culture et du liquide, pour constater s'il se produit un coagulum indiquant la présence de présure et si ensuite le coagulum se liquéfie par suite de l'existence de caséase. Pour mesurer l'activité de la diastase sécrétée, je prends une série de matras contenant 25^{ème} de lait écrémé stérilisé; j'y ajoute la même quantité de liquide de culture, stérilisé par filtration à la bougie Berkefeld et je porte le tout à l'étuve à 40°. J'ai préalablement dosé la caséine contenue dans 25^{ème} de lait, en la précipitant par addition de 5^{ème} d'acide trichloro-acétique. Je filtre sur un filtre taré; le précipité est ensuite desséché à 100° pendant douze heures, puis pesé au dixième de milligramme: c'est le matras témoin. J'arrête les expériences à différents intervalles et je répète la même opération que pour le témoin. La différence entre le poids de la caséine restante et le poids de la caséine du matras témoin donne le poids de la caséine disparue. La comparaison des nombres donnés par les différents matras d'une même expérience renseigne sur la plus ou moins grande activité de la diastase sécrétée. Cette technique est celle dont se sont servi Bodin et Lenormand pour l'étude de la caséase produite par un *Streptothrix*.

Mes observations ont porté sur les espèces suivantes, appartenant toutes les cinq aux genres *Mucor*, *Rhizopus*, *Rhizomucor* et *Aspergillus*. Ce sont :

Mucor racemosus, *M. corymbifer*, *Rhizopus equinus* var. α , *Rhizomucor parasiticus*, *Aspergillus fumigatus*.

Genre Mucor.

MUCOR RACEMOSUS

Le *Mucor racemosus* pousse très bien sur les milieux solides, tels que tranches de pomme de terre, de chou, de carotte, sur moût de bière et bouillon de bœuf gélosé; en revanche, il pousse mal sur les milieux liquides, car les spores tombent rapidement au fond du récipient et, en germant, donnent d'abord des formes oïdiennes

(fig. 11). Ce n'est qu'au bout d'un certain temps que le mycélium peut atteindre la surface du liquide et encore reste-t-il très chétif. Au centre de la culture, les hyphes sporangifères sont très courtes; cependant, à la périphérie, on voit quelques filaments plus élevés grimper le long de la paroi du matras et se terminer par une grappe de sporanges étalée à la surface du verre. Sur les milieux solides, à l'étuve à 25°, on voit après vingt-quatre heures, un léger duvet formé de filaments blancs enchevêtrés, le long de la strie

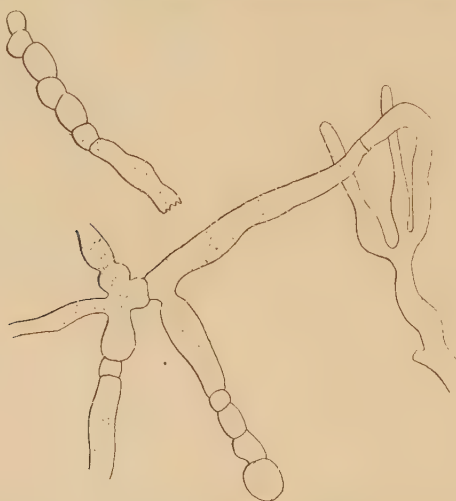


Fig. 11. — *Mucor racemosus*. — Formes oidien-
nes, mycélium âgé de six jours complètement im-
mergé dans le liquide de Raulin.

d'ensemencement; les jours suivants, on voit ce duvet s'étendre en gazon à la surface du substratum. Vers le troisième jour, commen-
cent déjà à apparaître les hyphes sporangifères, qui sont d'abord
de couleur blanche et atteignent leur complet développement vers
le sixième jour; elles prennent alors une teinte gris clair. A partir
de ce moment, le Champignon commence à vieillir : les filaments
mycéliens et les hyphes sporangifères ont une couleur ocreuse et
finalement s'affaissent sur le substratum.

Recherche de l'optimum de température. — Le Champignon est
ensemencé dans quatre matras à fond plat, contenant chacun
50 ^{cmc} de bouillon artificiel composé de : eau 100 ^{cmc} ; peptone
sèche 1 gr. ; glycérine 3 gr.

Les poids des cultures, desséchées à 100°, après huit jours de végétation sont les suivants :

à 40°.	0 gr. 0000
à 37°.	0 gr. 0337
à 25°.	0 gr. 1120

à la température du laboratoire variant entre :

10° et 15°.	0 gr, 0450
---------------------	------------

Il est donc évident que la température la plus favorable au développement du *Mucor racemosus* est 25° environ; ces chiffres montrent en outre que le poids de la culture donnée par le Champignon est moindre au dessus de 25° qu'au dessous, ce qui permet de prévoir immédiatement que cette espèce cryptogamique ne trouvera pas, chez les animaux dont la température est voisine de 37°, un milieu favorable à sa végétation.

Affinités nutritives du Mucor racemosus.

Les nombres contenus dans le tableau suivant indiquent le poids moyen des cultures obtenues après quinze jours de végétation, ces cultures ayant été ensuite lavées, puis pesées après dessiccation à 100°.

MOYENNES DE TROIS EXPÉRIENCES

MILIEUX		Poids de récolte
Peptone 1 gr. %		0 gr. 0488
Soude pour neutraliser		
Peptone 1		0 gr. 1348
Glycérine 3		
Peptone 1		0 gr. 1902
Glycose 3		
Peptone 1		0 gr. 1894
Saccharose 3		
Peptone 1		0 gr. 0481
Acide tartrique 0,03		
Peptone 1		0 gr. 0320
Acide tartrique 0,05		
Peptone 1		0 gr. 0368
Acide tartrique 0,10		
Peptone 1		0 gr. 0315
Acide tartrique 0,20		

On peut voir, d'après ce tableau, que les hydrates de carbone sont les aliments de choix pour ce Champignon, puisque ce sont la saccharose, et surtout la glycose, qui donnent les poids de culture les plus élevés. Le bouillon à base de peptone, additionné d'acide tartrique, est aussi favorable à la végétation, à condition qu'on n'exagère pas la dose d'acide; c'est en effet avec 0 gr. 10 pour cent d'acide tartrique qu'on obtient le poids le plus élevé.

Sucrase. — Le *Mucor racemosus*, consommant la saccharose, produit évidemment de la sucrase pour l'intervertir et la rendre assimilable. Cette assimilation de la saccharose est même assez rapide, comme le prouve l'expérience suivante : le Champignon est semencé sur un milieu contenant :

Peptone sèche.	1 gr. pour cent.
Sucre candi	3 gr. 02 pour cent.

La saccharose étant dosée en sucre interverti, au bout de quinze jours de végétation à 25°, on ne trouve aucune trace de sucre réducteur dans le liquide de culture, après avoir soumis ce liquide à l'ébullition avec l'acide chlorhydrique, pour intervertir le sucre qui pourrait se trouver dans le liquide.

Caséase. — Il faut d'abord examiner les caractères des cultures sur lait. Le Champignon est semencé sur lait de Vache écrémé à la centrifugeuse et placé à l'étuve à 25°; les deux premiers jours, on voit des filaments blancs nager à la surface du liquide; le troisième jour, les filaments s'enchevêtrent et deviennent plus élevés, surtout au voisinage des parois du matras; pendant ce temps, le mycélium croît surtout immergé dans le liquide, cependant quelques têtes sporifères commencent à apparaître au sommet des filaments qui sont à la surface; à partir du cinquième jour le mycélium devient de plus en plus abondant et le lait se coagule : le Champignon produit donc de la présure. J'ai poussé l'observation jusqu'au huitième jour, époque à laquelle le Champignon était complètement sporulé et le coagulum en partie liquéfié : le *Mucor racemosus* produit donc de la caséase.

Afin de mettre en évidence l'existence de cette diastase, j'ai fait l'expérience suivante : on filtre le liquide d'une culture âgée de vingt-quatre jours, semencée, sur un milieu composé de :

Eau	100 gr.
Peptone <i>filtrée</i>	1 gr.
Glycose	3 gr.

On met 23^{ème} de ce liquide dans un certain nombre de matras, contenant 25^{ème} de lait écrémé, que l'on place à l'étuve à 40° ; la caséine est dosée dans un matras témoin, puis l'expérience est arrêtée successivement dans les différents matras, après un temps plus ou moins long, et la quantité de caséine disparue est recherchée comme il a été dit plus haut. Le tableau suivant donne les résultats obtenus.

Le témoin contient 4 gr. 4536 de caséine p. 100.

	Caséine restant	Caséine disparue
après 14 h.	4 gr. 2920	0 gr. 1616
— 17 h.	4 gr. 1321	0 gr. 3215
— 23 h. 1/2	3 gr. 9290	0 gr. 5246
— 33 h. 1/2	3 gr. 8264	0 gr. 6272
— 53 h. 50'	3 gr. 3684	1 gr. 0852

On voit que la diastase secrétée est peu active, quand on la compare à celle du *Streptothrix* étudié par Bodin et Lenormand (1).

Mucor corymbifer

Le *Mucor racemosus* étant une espèce non pathogène, j'ai tenu à répéter quelques-unes des expériences précédentes avec le *Mucor corymbifer*, qui est très pathogène.

Recherche de l'optimum de température. — Le Champignon est ensemencé sur bouillon artificiel, à base de peptone et de glycérine, dans les mêmes proportions que précédemment. Le poids des cultures desséchées après huit jours est le suivant :

à 40°	0 gr. 2283
à 37°	0 gr. 3155
à 25°	0 gr. 1985

à la température du laboratoire variant

entre 10° et 15°	0 gr. 0000
----------------------------	------------

On voit donc que l'optimum de température est de 37° ; cependant on peut remarquer que le poids des cultures est beaucoup plus considérable qu'avec le *Mucor racemosus*. Cela tient à ce que les spores du *Mucor corymbifer* ont moins de tendance à tomber dans

(1) E. BODIN et C. LENORMAND, Sur la production de caséase par un *Streptothrix* parasite. *Annales de l'Institut Pasteur*, 1901.

le fond du liquide, par conséquent la partie aérienne du Champignon se développe plus rapidement et plus abondamment.

Les cultures sur milieu acide, desséchées et pesées après douze jours, ont donné les poids suivants :

MOYENNE DE TROIS EXPÉRIENCES :

MILIEUX	POIDS DE RÉCOLTE
Peptone. 1 gr. p. 100 Ac. tartrique . . . 0.05	0 gr. 1358
Peptone. 1 Ac. tartrique. . . 0.10	0 gr. 1334
Peptone. 1 Ac. tartrique . . . 0.20	0 gr. 1482

Ces cultures ont été, naturellement, obtenues à 37°, température optima du Champignon. Les nombres obtenus prouvent que, comme pour le *Mucor racemosus*, c'est le liquide contenant 0 gr. 10 p. 100 d'acide tartrique qui est le plus favorable au développement.

Sucrase. — Dans le liquide d'une culture ensemencée sur le même bouillon que le *Mucor racemosus*, on ne trouve plus de sucre au bout de quinze jours. Le Champignon sécrète donc de la sucrase.

Caséase. — Les cultures à 37°, sur lait écrémé, présentent les deux premiers jours quelques filaments blancs nageant à la surface du liquide; le troisième jour, les filaments se développent surtout au milieu du liquide, quelques-uns seulement commencent à s'élever; le quatrième jour, le lait est en partie coagulé; le cinquième, le coagulum forme une masse remplissant tout le fond du matras: à sa surface, le Champignon à l'aspect d'un duvet blanc très serré; la liquéfaction du coagulum commence alors et elle est complète au huitième jour.

Le Champignon sécrète donc de la présure et de la caséase: dans un matras témoin, contenant 4 gr. 7996 de caséine p. 100, en répétant la même expérience que pour le *Mucor racemosus*, on a :

	Caséine restant	Caséine disparue
après 2 h. 35	4 gr. 6452	0 gr. 1544
— 8 h. 25	4 gr. 1464	0 gr. 5632

En comparant les chiffres précédents avec ceux du *Mucor racemosus*, on voit que la diastase sécrétée par le *Mucor corymbifer* est beaucoup plus active.

Genre *Rhizopus*

RHIZOPUS EQUINUS var *α*.

J'ai déjà indiqué plus haut, en étudiant la morphologie de ce Champignon, les principaux caractères qui le différencient du *Rhizopus equinus* typique de Costantin et Lucet ; au point de vue de la rapidité avec laquelle se développe ce Champignon, on peut dire qu'il arrive à maturité dans un temps moitié moindre que le *Rhizopus equinus* ; seulement, tandis que les filaments sporifères de celui-ci forment un duvet assez épais, ceux de la variété *α* s'affaissent à la surface du substratum et prennent une teinte plus grise.

Recherche de l'optimum de température. — Les poids des cultures obtenues sur liquide peptonisé et glyciné, après huit jours de végétation sont les suivants :

à 40°.	0 gr. 3454
à 37°.	0 gr. 3760
à 25°.	0 gr. 3184

à la température du laboratoire variant entre :

10° et 15°.	0 gr. 0000
---------------------	------------

L'optimum de température est donc 37°, mais les chiffres montrent que les températures les plus élevées sont les plus favorables : ce résultat peut faire prévoir que l'espèce est pathogène.

Affinités nutritives du Rhizopus equinus var. α. — Le tableau suivant donne les poids des cultures obtenues à 37°, après huit jours de végétation sur bouillon de bœuf salé et peptonisé, additionné de diverses substances.

MOYENNES DE TROIS EXPÉRIENCES.

Bouillon neutre		0 gr. 2932
Bouillon + soude	0 gr. 03 p. 100	0 gr. 2167
Bouillon + acide tartrique	0 gr. 03 p. 100	0 gr. 2949
Bouillon + glycérine	3 gr. p. 100	1 gr. 3513
Bouillon + glycose	3 gr. p. 100	0 gr. 5257
Bouillon + saccharose	3 gr. p. 100	0 gr. 5911

Les milieux contenant de la glycérine ou des hydrates de carbone sont donc les plus favorables ; quant aux milieux neutres, alcalins ou acides, ils donnent des cultures de poids très voisins, cependant le milieu acide paraît le meilleur et, comme pour le *Mucor racemosus*, c'est avec 0 gr. 10 p. 100 d'acide tartrique qu'on obtient la

culture la plus abondante. Le tableau suivant donne les poids des cultures sur bouillon additionné de 0 gr. 50 seulement de peptone et d'une petite quantité d'acide tartrique.

MOYENNES DE TROIS EXPÉRIENCES :

Bouillon + acide tartrique	0 gr. 05 p. 100	0 gr. 1677
Bouillon + acide tartrique	0 gr. 10 p. 100	0 gr. 2700
Bouillon + acide tartrique	0 gr. 20 p. 100	0 gr. 1474

Sucrase. — Le Champignon consomme le sucre candi, mais la diastase secrétée est peu active : en effet, si dans un bouillon de peptone contenant 59 gr. 63 p. 100 de saccharose, on ensemence des spores, elles donnent une culture abondante; cependant, après quatorze jours, on trouve 2 gr. 70 p. 100 et après vingt deux jours 2 gr. 20 p. 100 de sucre dans le liquide.

Caséase. — Le Champignon pousse bien sur lait de Vache écrémé; au bout de huit jours on obtient une culture qui pèse 0 gr. 3193 après dessiccation. Le premier jour, on voit seulement quelques filaments blancs à la surface du liquide, les deux jours qui suivent on trouve au contraire un duvet court et serré et un caillot commence à se former dans le liquide; le quatrième jour, la culture est abondamment sporulée et le coagulum qui avait rempli tout le fond du matras commence à se liquéfier dans sa partie supérieure, la liquéfaction est complète au huitième jour, le Champignon secrète donc de la présure et de la caséase

Pour un matras témoin, contenant 4 gr. 4336 p. 100 de caséine, le tableau suivant donne la quantité de caséine disparue pendant une expérience qui a duré un peu plus de vingt-six heures.

	caséine restant	caséine disparue
après 3 h. 3/4	3 gr. 9652	0 gr. 4884
— 7 h. 25'	3 gr. 4096	1 gr. 0440
— 8 h. 50'	3 gr. 3140	1 gr. 1396
— 24 h.	3 gr. 2700	1 gr. 1830
— 26 h. 40'	2 gr. 0440	2 gr. 4096

En comparant ces nombres avec ceux du *Mucor racemosus*, on voit que la diastase secrétée par le *Rhizopus equinus* est beaucoup plus active.

Genre *Rhizomucor*

RHIZOMUCOR PARASITICUS

Le *Rhizomucor parasiticus* pousse bien sur tous les milieux solides dont on se sert ordinairement : tranches de pommes de terre, de carotte etc., sur les milieux liquides solidifiés par la gélose ; sur les milieux liquides et les bouillons il se développe, mais néanmoins donne des cultures assez abondantes ; sur le liquide de Raulin, le Champignon végète moins facilement. Le mycélium a l'aspect d'un gazon très court et très serré, d'abord gris clair, qui brunit ensuite et prend une teinte café au lait lorsqu'il est arrivé à maturité.

Recherche de l'optimum de température. — Des cultures commencées sur bouillon de peptone glycérine, pesées après huit jours, donnent les résultats suivants :

à 40°	0 gr. 6308
à 37°	0 gr. 6984
à 25°	0 gr. 0400

à la température du laboratoire variant entre

10° et 15°	0 gr. 0000
----------------------	------------

on voit que l'optimum est 37°, mais le Champignon donne encore des cultures abondantes à 40°, tandis qu'à 25°, le poids des cultures est extrêmement réduit ; on peut en déduire que le Champignon est essentiellement parasite et accoutumé depuis longtemps à la vie parasitaire ou bien qu'il est originaire des pays chauds.

Affinités nutritives du Rhizomucor parasiticus. — Le tableau ci-dessous donne les poids de cultures âgées de huit jours obtenues à 37° et pesées après dessiccation, le milieu nutritif étant à base de bouillon de bœuf salé et peptonisé.

MOYENNES DE TROIS EXPÉRIENCES

MILIEUX	POIDS DE RÉCOLTE	
Bouillon neutralisé		0 gr. 1405
Bouillon + soude	0 gr. 03 p. 100	0 gr. 0989
Bouillon + acide tartrique	0 gr. 03 p. 100	0 gr. 1919
Bouillon + glycérine	3 gr. 00 p. 100	0 gr. 2991
Bouillon + glycose	3 gr. 00 p. 100	0 gr. 8831
Bouillon + saccharose	3 gr. 00 p. 100	0 gr. 7538

On voit que, pour ce Champignon comme pour les précédents, ce sont les sucres et la glycérine qui sont le plus favorables au développement. J'ai répété, par hasard, l'expérience sur la consom

mation du saccharose mais avec un bouillon fait avec la viande d'un autre animal ; voici les résultats obtenus :

MOYENNE DE TROIS EXPÉRIENCES

MILIEUX

POIDS DE RÉCOLTE

Bouillon + saccharose 3 gr. p. 100 1 gr. 7489

on voit donc qu'il y a 1 gr. de différence avec l'expérience précédente ; j'en conclus que, pour une même série d'expériences sur un Champignon, il faut toujours opérer avec le même bouillon, ou ce qui est préférable avec un bouillon artificiel à base de peptone, ce que j'ai fait depuis ; ce dernier mode de procéder est obligatoire, si l'on veut avoir des résultats comparables, dans une longue série d'expériences, pour un même Champignon.

On remarquera, d'après les nombres qui suivent, que les milieux légèrement acides, surtout l'acide tartrique à 0 gr. 10 p. 100 favorisent le développement du mycelium.

MOYENNES DE TROIS EXPÉRIENCES

Cultures sur bouillon de bœuf peptonisé âgées de huit jours

MILIEUX

POIDS DE RÉCOLTE

Bouillon + acide tartrique 0 gr. 05 p. 100 0 gr. 6027

Bouillon + acide tartrique 0 gr. 10 p. 100 0 gr. 9166

Bouillon + acide tartrique 0 gr. 20 p. 100 0 gr. 8102

Parmi les matières sucrées, la glycose et le maltose donnent les cultures les plus abondantes, le tableau suivant résume les expériences que j'ai faites à ce sujet :

MOYENNES DE TROIS EXPÉRIENCES

Cultures âgées de huit jours

MILIEUX	Poids de récolte
Peptone..... 0gr 50 p. 100 Soude pour neutraliser	0gr 0380
Peptone..... 0 50 Saccharose..... 3 »	0 0887
Peptone..... 0 50 Glycose..... 3 »	0 4598
Peptone..... 0 50 Maltose..... 3 »	0 4660
Peptone..... 0 50 Lactose..... 3 »	0 3738

Le Champignon utilise donc les sucres dans les mêmes proportions que ceux que j'ai étudiés précédemment et le poids considérable des cultures obtenues avec le maltose explique la rapidité avec laquelle il se développe sur le moût de bière.

Sucrase. — Le Champignon consomme le sucre candi plus rapidement que le *Rhizopus equinus* α ; en effet si, dans un milieu composé de 1 p. 100 de peptone et de 5,63 p. 100 de sucre candi, onensemence le *Rhizomucor parasiticus*, après quatorze jours il ne reste plus que 1 gr. 219 p. 100 de sucre et après vingt-deux jours 0 gr. 03 p. 100 seulement. La diastase qu'il secrète est donc plus active que celle du Champignon précédent.

Caséase. — Le Champignon pousse bien sur lait de vache, au bout de huit jours à l'étuve à 37°, dans un matras contenant 50cc de lait, on obtient une culture qui pèse 0 gr. 8255 après dessiccation. Pendant les deux premiers jours, la culture ressemble à un léger duvet blanc; le quatrième jour, la culture, qui végète toujours en surface, se plisse et des têtes sporifères commencent à apparaître dans sa partie centrale; le cinquième jour, le lait est complètement coagulé et la culture sporulée dans toute sa surface; le huitième jour, le coagulum est à moitié liquéfié. Le Champignon produit donc de la présure et de la caséase, cette dernière diastase est d'ailleurs peu active, car la caséine disparaît lentement, comme l'indique le tableau suivant :

Le matras témoin contient 4 gr. 7.996°/° de caséine.

	Caséine restant	Caséine disparue
après 2 h. 25'	4 gr. 7120	6 gr. 0876
— 8 h. 15'	4 gr. 5936	0 gr. 2060
— 25 h.	4 gr. 2872	0 gr. 5124
— 26 h.	3 gr. 7828	1 gr. 0168
— 32 h.	3 gr. 6428	1 gr. 2368

Genre *Aspergillus*

ASPERGILLUS FUMIGATUS.

Cette espèce pousse bien sur tous les milieux : sur les liquides, les spores germent rapidement parce qu'elles surnagent et ont peu de tendance à tomber au fond des matras, si l'on opère l'ensemencement avec soin. On voit, dès les premiers jours, un fin duvet blanc le long de la strie d'ensemencement; ce duvet s'étend

lentement en surface et reste très court. Peu après, il se couvre de têtes sporifères, d'abord de couleur vert de gris puis brun verdâtre lorsqu'elles sont complètement mûres; si on laisse le Champignon végéter longtemps sur les milieux liquides, la culture se plisse et devient mamelonnée.

Recherche de l'optimum de température. — A différentes températures, les poids de cultures âgées de huit jours, sur bouillon de peptone glyciné, sont les suivants :

à 40°	0 gr. 7376
à 37°	0 gr. 7080
à 25°	0 gr. 6082

à la température du laboratoire variant entre

10° et 15°	0 gr. 0000
----------------------	------------

L'optimum de température est donc 40°, ce qui explique la fréquence de l'aspergillose chez les Oiseaux, dont la température normale est plus élevée que celle des Mammifères; mais le Champignon donne encore une culture presque aussi abondante à 37°, aussi est-il très pathogène pour le Lapin et le Cobaye.

Affinités nutritives de l'Aspergillus fumigatus. — Comme pour les Champignons précédents, ce sont les milieux glycinés et sucrés qui conviennent le mieux au Champignon; cependant l'acide tartrique paraît plus favorable à cette espèce qu'aux autres, c'est en effet avec 0 gr. 10 p. 100 de ce corps que l'on obtient la culture la plus abondante. Le tableau suivant donne les résultats obtenus à ce sujet :

MOYENNES DE TROIS EXPÉRIENCES

(Cultures à 37° âgées de huit jours)

MILIEUX	POIDS DE RÉCOLTE
Peptone	0 gr. p. 100 {
Soude pour neutraliser	» » — { 0 gr. 0899
Peptone	1 » — {
Soude	0 03 — { 0, 0920
Peptone	1 » — {
Ac. tartrique	0 03 — { 0, 1258
Peptone	1 » — {
Glycérine	3 » — { 0, 7426

MILIEUX			POIDS DE RECOLTE
Peptone	1 »	—	{ 0, 6964
Glycose	3 »	—	{
Peptone	1 »	—	{ 0, 6247
Saccharose	3 »	—	{

(Cultures à 37° âgées de cinq jours)

Peptone	1 »	—	{ 0, 0751
Ac. tartrique	0 05	—	{
Peptone	1 »	—	{ 0, 0617
Ac. tartrique	0 10	—	{
Peptone	1 »	—	{ 0, 0645
Ac. tartrique	0 20	—	{

Sucrase. — Le Champignon consomme assez rapidement la saccharose; si on l'ensemence sur un milieu à base de peptone, contenant 5 gr. 63 p. 100 de sucre candi, après quatorze jours on ne trouve plus que 1^{er}. III de sucre dans le liquide de culture et au vingt-deuxième jour il a complètement disparu.

Caséase. — Le Champignon pousse bien sur le lait; les cultures commencent à sporuler au troisième jour, et le lait est déjà en partie coagulé; le coagulum commence à se liquéfier au cinquième jour, et au bout d'une semaine la liquéfaction est complète; d'ailleurs les chiffres suivants prouvent que la caséine disparaît rapidement et que par conséquent la diastase secrétée est assez active.

Le matras témoin contenant 4^{er} 4608 p. 100 de caséine.

	caséine restant	caséine disparue
après 3/4 d'heure	4 ^{er} 2884	0 ^{er} 1784
— 2 h. 1/4	4 0280	0 4328
— 16 h.	3 6460	0 8148
— 28 h.	3 0836	1 3752

Si l'on reprend, dans une vue d'ensemble, les faits dont le détail a été donné ci-dessus, on arrive à cette conclusion que les principaux types cryptogamiques parasites des mycoses internes: *Mucor*, *Rhizopus*, *Rhizomucor*, *Aspergillus* présentent entre eux au point de vue biologique de grandes analogies.

Tous ont une affinité nutritive remarquable pour les hydrates de carbone tels que la saccharose, la glycose et un alcool triatomique connu: la glycérine, qui, en des proportions diverses, mais toujours d'une manière très nette, déterminent dans les milieux artificiels une augmentation du poids de récolte.

Il est à noter, en outre, que la réaction qui convient le mieux à ces végétaux est la réaction faiblement, mais nettement, acide qui correspond en moyenne à 0^{sr}, 40 p. 100 en acide tartrique.

Au point de vue des sécrétions diastasiques, je n'ai pu pousser aussi loin que je l'aurais voulu l'étude de ces divers Champignons ; j'ai dû me borner à constater qu'ils sont d'actifs producteurs de présure et de caséase, chez tous également j'ai noté la production de sucrase. Ce dernier fait mérite particulièrement d'être remarqué, car, sous ce rapport, les *Mucor*, *Rhizopus*, *Rhizomucor*, *Aspergillus* se distinguent nettement des *Trichophyton*, *Achorion* et *Microsporum* chez lesquels la sucrase n'a pas pu être mise en évidence jusqu'ici.

Un dernier fait doit être noté en cette étude, il est relatif à la température optima de végétation des parasites. Sous ce rapport, il est très certain que les Champignons pathogènes ont tous un optimum de température élevé, se rapprochant de 37°; sans vouloir faire de cette particularité la condition de leur pouvoir nocif pour les animaux ou l'Homme, il est évident qu'elle intervient dans une certaine mesure au moins, dans les questions de virulence de ces parasites

III. — LES CHAMPIGNONS DANS LEUR VIE PARASITAIRE

Dans l'étude du rôle des Champignons comme agents pathogènes, le point capital est l'expérimentation sur les animaux. L'inoculation des animaux mis en expérience peut se faire suivant plusieurs modes : par exemple, par l'inhalation des spores, en faisant respirer à l'animal un air contenant un grand nombre de spores en suspension. Cette méthode est peu recommandable car elle n'est pas rigoureuse ; en effet, l'air inhalé par l'animal contient presque à coup sûr et malgré toutes les précautions prises, les spores de plusieurs espèces cryptogamiques et certainement de nombreuses Bactéries. Le meilleur procédé est l'inoculation, en un point déterminé de l'organisme, d'un liquide préalablement stérilisé, contenant des spores en suspension. L'important est que le liquide à inoculer contienne l'agent pathogène à l'état de pureté ; ceci offre relativement peu de difficulté pour les Bactéries, car, avec une seringue stérilisée, on peut assez facilement prélever une certaine quantité de liquide dans un tube de culture. Avec les Champignons, les inconvénients sont plus nombreux : il faut en effet inoculer seulement des spores, en évitant la présence de gros fragments de mycélium, qui pourraient provoquer des embolies, dans une inoculation intraveineuse par exemple.

Il faut opérer différemment pour obtenir une émulsion de spores bien homogène, suivant que l'on a affaire à des Champignons à mycélium formant un feutrage lâche et à hyphes sporangifères élevées, comme dans les genres *Mucor* et *Rhizopus*, ou à des Champignons à mycélium dense et serré, dont les pédoncules sporifères sont très courts, comme les *Aspergillus*.

J'ai toujours employé l'eau physiologique à 7 gr. 50 de sel marin pour 1000 gr. d'eau, comme liquide devant tenir en suspension les spores à inoculer. Voici comment je prépare les émulsions de spores. Dans le cas des Champignons à mycélium lâche, je mets dans un grand verre de montre, préalablement flambé, quelques centimètres cubes d'eau physiologique stérilisée et je recouvre le

verre de montre avec un cristalliseur flambé. Je prélève, avec un fil de platine recourbé à angle droit, une assez grande quantité de mycélium arrivé à sporulation, je le porte dans l'eau physiologique stérilisée et tandis qu'un aide soulève légèrement le cristalliseur, tout en le maintenant au-dessus du verre de montre, pour empêcher les poussières de l'atmosphère de venir contaminer l'émulsion, je dissocie le mycélium avec deux fils de platine recourbés. Je repousse ensuite sur les bords du verre de montre les fragments du mycélium, de sorte qu'il ne reste dans le liquide que les spores qui ont été mises en liberté pendant la dissociation. Avec l'*Aspergillus fumigatus*, qui a un mycélium très dense et très peu élevé, l'émulsion de spores est plus facile à obtenir. On prend une culture en tube sur moût de bière gélosé, d'autre part on stérilise l'eau physiologique dans un tube dont le diamètre est plus petit que celui du tube de culture; ceci fait, on enlève les bouchons de coton des deux tubes et, en les tenant le plus horizontalement possible, après avoir flambé leurs extrémités, on fait pénétrer de deux ou trois centimètres le tube d'eau physiologique dans le tube de culture, puis on verse l'eau à la surface de la culture. Avec un fil de platine, on frôle légèrement les têtes sporifères, les spores se détachent et viennent nager à la surface, on porte ensuite cette eau dans le verre de montre flambé, placé sous un cristalliseur; il ne reste plus qu'à agiter quelque temps avec un fil de platine pour avoir une émulsion homogène.

J'ai fait toutes les inoculations avec une seringue de Pravaz, en différents points de l'organisme : dans les veines, le péritoine et le tissu cellulaire sous-cutané, en ayant soin de toujours raser la région à inoculer. Pour aseptiser cette région, le moyen le plus simple est de cautériser au thermocautère et d'enfoncer l'aiguille de la seringue au centre de la pointe de feu.

Dans ce chapitre, réservé à l'étude de l'anatomie pathologique, je décrirai d'abord les lésions macroscopiques observées dans les autopsies, je passerai ensuite à l'examen microscopique de coupes pratiquées dans les organes lésés, en essayant d'élucider la genèse de ces lésions, comme je l'ai fait avec Bodin pour les mycoses du foie, dans un précédent mémoire (1). Les colorations qui m'ont

(1) E. BODIN et P. SAVOURÉ, Recherches expérimentales sur les mycoses internes. *Archives de Parasitologie*, VIII, p. 110, 1904.

donné les résultats les meilleurs sont : l'hémalun et l'éosine-aurantia pour l'examen des lésions cellulaires; le bleu polychrome de Unna et l'orange tannique quand j'ai voulu colorer le mycélium pour étudier ses rapports avec les cellules des tissus.

Toutes les pièces qui m'ont servi pour les coupes ont été fixées au sublimé acétique quand, l'autopsie avait lieu aussitôt après la mort. J'ai employé simplement la fixation à l'alcool à 90° lorsque l'animal était trouvé mort dans sa cage, et qu'il était impossible de savoir l'heure exacte de sa mort.

Etudions d'abord l'allure générale des mycoses internes, après inoculation intraveineuse. Chez les animaux morts, à la suite de ces inoculations, dont j'ai fait l'autopsie, j'ai toujours trouvé les lésions accentuées dans le rein; ensuite les organes les plus malades sont, en suivant l'ordre d'intensité des lésions, la rate et le foie; jamais je n'ai constaté de lésions dans le poumon, ce qui ne veut pas dire qu'il n'en existe pas. Ceci s'explique assez facilement, car les capillaires du rein sont très petits, ceux de la rate et du foie ont un volume plus considérable, quant à ceux du poumon, ils sont en général beaucoup plus volumineux que ceux des organes précédemment cités, voilà probablement pourquoi le poumon reste indemne, quoique ce soit dans cet organe que passent d'abord les spores à leur sortie du cœur droit, où elles arrivent directement après l'inoculation dans la veine de l'oreille. D'ailleurs, les spores des espèces pathogènes, qui sont relativement petites, comme celles de l'*Aspergillus fumigatus*, du *Rhizomucor parasiticus* et du *Rhizopus equinus* qui forment avec l'eau physiologique une émulsion bien homogène, demeurent peu de temps dans le poumon.

En effet, dans une expérience faite à un autre point de vue (1) j'ai constaté que si l'on ensemence sur moût de bière des fragments de poumons d'animaux inoculés avec ces Champignons, la rétro-culture reste négative, même après un temps très court (quarante-huit heures) après l'inoculation, tandis qu'avec l'*Aspergillus niger*, qui n'est pas pathogène, le poumon des animaux inoculés donne encore une culture du Champignon huit jours après l'inoculation; il est vrai que les spores d'*Aspergillus niger* sont un peu plus grosses que celles des Champignons cités plus haut, de plus elles s'émul-

(1) E. BODIN et P. SAVOURÉ, *Loco citato*, p. 117-118.

sionnent mal et forment de petits grumeaux, ce qui doit favoriser leur stagnation dans les capillaires du poumon, sans toutefois produire d'embolies graves, à cause du volume relativement petit de ces grumeaux.

Quoi qu'il en soit, après toutes les inoculations intraveineuses de spores de Champignons pathogènes que j'ai faites au Lapin, les choses se sont passées de la façon suivante : pendant les trois ou quatre jours qui suivent l'inoculation, l'animal, semble bien portant et continue à manger comme à l'ordinaire, puis, brusquement l'appétit disparaît, l'animal semble triste et reste pelotonné dans le coin de sa cage, enfin la mort arrive du troisième au sixième jour, avec des symptômes dont la nature varie suivant l'espèce du Champignon inoculé.

Avec le *Mucor corymbifer* et les deux espèces voisines, *Mucor Regnierii* et *Mucor Truchisi*, les symptômes qui précèdent la mort sont des convulsions avec contracture du cou et déviation latérale de la tête, quelquefois la violence de ces convulsions peut être telle que j'ai vu des animaux projetés hors de leur cage par des soubresauts et se dresser sur la tête avant de mourir; ces phénomènes sont sujets à des périodes de rémission, qui deviennent de plus en plus rares et de plus en plus courtes aux approches de la mort.

Avec le *Rhizomucor parasiticus*, les symptômes morbides apparaissent généralement vers le quatrième jour et se manifestent par de l'inappétence et de la tristesse; la mort arrive ordinairement dans les vingt-quatre heures qui suivent, après une période de convulsions prédominant surtout dans les membres, tandis que l'animal reste couché sur le côté, l'œil terne, et ne réagissant plus quand on le touche et quand on l'effraye. En tous cas les symptômes n'ont jamais été accentués et les convulsions si violentes qu'après les inoculations de spores de Champignons du type *Mucor corymbifer*.

Avec les deux espèces de *Rhizopus* que j'ai inoculées, la mort arrive presque toujours dans les mêmes délais que pour le *Rhizomucor parasiticus*, quelquefois même après un temps moindre, mais les troubles qui précèdent la mort sont toujours plus graves, toutefois sans atteindre la gravité de ceux que produisent le *Mucor corymbifer* et les espèces voisines.

Quant aux Lapins inoculés dans le torrent circulatoire avec des spores d'*Aspergillus oryzae* et d'*Aspergillus sulphureus*, ils meurent au

quatrième jour, avec des phénomènes convulsifs particulièrement violents. Les crises sont très nombreuses et très rapprochées, les convulsions portent particulièrement sur les membres et le globe oculaire et prédominent sur un côté du corps; pendant la courte période de rémission qui existe entre les crises, l'animal est en opisthotonos et la contracture musculaire persiste, puis les crises se rapprochent de plus en plus et enfin l'animal meurt.

Après les inoculations intrapéritonéales la mort, arrive généralement plus tardivement qu'avec les inoculations intraveineuses, ce n'est généralement que vers le sixième jour, pour le *Rhizomucor parasiticus*, que l'animal succombe, les lésions des principaux viscères abdominaux sont identiques macroscopiquement, mais, de plus, la séreuse péritonéale est rouge et congestionnée. Avec le *Rhizopus equinus*, les Cobayes inoculés dans la cavité péritonéale succombent vers le sixième ou septième jour après l'inoculation. Les reins et la rate sont particulièrement atteints et on constate aussi quelques tubercules blancs sur le péritoine. Quant aux inoculations sous-cutanées, les animaux résistent à ce mode de contamination pour le *Rhizomucor parasiticus* (1); mais si l'on prend soin, au moment de l'inoculation, d'injecter sous la peau de l'animal une certaine quantité de teinture d'opium, on constate, au bout de quelque temps, la présence d'un nodule sous-cutané induré, rempli d'un pus crémeux et bien lié, lequel donne une culture pure de *Rhizomucor parasiticus*; on met ainsi en évidence le rôle défensif des phagocytes qui, paralysés par la teinture d'opium, ne peuvent détruire les spores du Champignon inoculé. Cependant, dans le cas de cette espèce cryptogamique, l'action nocive des spores se borne à la formation d'un abcès sous-cutané bien limité et on ne constate pas de lésions en d'autres points de l'économie. J'avais pensé que cette action de l'opium, après inoculation intraveineuse, aurait pu favoriser le développement de lésions viscérales chez le Chien, animal réfractaire au *Rhizomucor parasiticus*, mais malgré l'injection sous-cutanée d'une grande quantité de teinture d'opium, l'animal a toujours continué à se bien porter. L'action antiphagocytaire de la teinture d'opium est encore plus probante avec les *Rhizopus*; en effet, de deux Cobayes inoculés dans le péritoine avec des spores

(1) LUCET et COSTANTIN, Contribution à l'étude des Mucorinées pathogènes. *Archives de Parasitologie*, t. IV, p. 352, 1901.

de *Rhizopus equinus*, le premier, sans teinture d'opium, meurt au bout de six jours, tandis que le second, qui a reçu 3^{cc} de teinture d'opium en injection sous-cutanée, meurt au bout de quatre jours.

Si on inocule l'animal sous la peau de la cuisse, dans cette région la dissémination des spores dans l'organisme se trouve entravée par la présence des ganglions de l'aîne, qui forment une puissante barrière phagocytaire. En effet les spores du *Rhizopus equinus* ne produisent rien dans ce cas, mais si l'on prend soin de traiter en même temps l'animal par la teinture d'opium, la mort arrive au bout du troisième jour. Avec le *Rhizopus equinus* α, point n'est besoin de teinture d'opium, une simple inoculation de 2 cc. d'émulsion de spores sous la peau de l'abdomen suffit pour faire périr l'animal au bout de sept jours, ce qui prouve que le *Rhizopus equinus* α est certainement plus nocif pour le Cobaye que le *Rhizopus equinus*.

Mais, en somme, quelque soit le mode d'inoculation, avec ou sans teinture d'opium, sous la peau de l'abdomen ou sous la peau de la cuisse, les lésions des principaux viscères : rein, rate, foie sont les mêmes que dans les inoculations intraveineuses; on constate de plus que le péritoine et l'intestin sont congestionnés et présentent souvent des lésions tuberculiformes, quelquefois l'intestin nécrosé est même perforé. Dans le cas des inoculations sous la peau de la cuisse, la masse des ganglions inguinaux, infiltrée de sérosité, est le siège d'un œdème gélatiniforme; la présence d'organes cryptogamiques : mycélium ou spores, est certaine dans ces viscères, dont un fragment prélevé et ensemencé aseptiquement donne toujours une culture pure du Champignon.

III. — ÉTUDE DES LÉSIONS ANATOMO-PATHOLOGIQUES

Si on observe macroscopiquement les organes atteints, on constate que la lésion est toujours formée de tubercules, quel que soit le Champignon inoculé. Je me contenterai de donner ici une description rapide des lésions macroscopiques, devant donner dans un chapitre suivant une relation complète des autopsies que j'ai faites, avec tous les détails concernant les lésions observées.

L'aspect des tubercules est variable suivant l'espèce cryptogamique inoculée. Les différences portent surtout sur la saillie plus ou moins grande que font ces tubercules à la surface de l'organe et aussi sur la façon dont ils se comportent au milieu du parenchyme. En effet, avec quelques espèces, on peut voir le tubercule se prolonger de la surface vers le centre en une longue traînée ou bien au contraire rester en surface, sous forme d'un seul point blanchâtre, tandis qu'on constate la présence d'autres tubercules identiques plus ou moins nombreux, isolés au milieu de la substance de l'organe. La couleur de ces tubercules est grisâtre ou blanc jaunâtre, tranchant bien sur la couleur des tissus restés sains. J'étudierai les organes d'après l'ordre suivant : d'abord le rein, puis le foie, la rate, etc., c'est-à dire en commençant par ceux qui ont, en général, le plus à souffrir de la présence du Champignon.

Dans le rein, avec le *Mucor corymbifer*, les tubercules sont blancs, non saillants à la surface de l'organe, mais ils pénètrent en forme de coin dans la substance corticale. Avec le *Mucor Regnierii*, au contraire, ils ne pénètrent pas dans le parenchyme; cependant on peut en trouver quelques-uns isolés au milieu de la substance corticale et même dans la substance médullaire. Quant au *Mucor Truchisi*, les lésions qu'il provoque ressemblent au premier abord à celles du *Mucor Regnierii*, mais si l'on coupe le rein longitudinalement, on les voit se prolonger en traînées vers le centre, comme celles du *Mucor corymbifer*.

Avec les *Rhizopus*, les lésions rénales sont peu nombreuses, en général, à la surface de l'organe, surtout après les inoculations intrapéritonéales ou sous cutanées. On remarque seulement la présence de quelques tubercules blancs, aplatis et isolés, se prolongeant à l'intérieur des tissus ; ce qui paraît surtout atteint est le centre de l'organe, qui semble transformé en un amas de tubercules confluents.

Quant au rein des animaux morts après inoculation de spores de *Rhizomucor parasiticus*, il est surtout congestionné et augmenté de volume : j'en ai vu un qui pesait près de trente grammes ; à la surface, on aperçoit un assez grand nombre de tubercules miliaires, confluents en certains points, entre lesquels apparaissent des zones de congestion.

Avec les *Aspergillus*, les tubercules sont plus petits, bien délimités et rarement confluents.

Après le rein, c'est le foie qui est le plus atteint par ces sortes de mycoses : les lésions se présentent sous la forme de tubercules plus ou moins volumineux, groupés par lots, entre lesquels le parenchyme hépatique paraît intact. A la coupe, on constate la présence de lésions identiques dans la profondeur de l'organe. Cependant, avec les *Rhizopus*, les lésions hépatiques affectent souvent la forme de longues traînées assez larges, rubanées, de couleur jaune, rappelant l'aspect du foie cancéreux ; alors les tissus de l'organe sont très friables et se déchirent facilement. Dans tous les cas, l'organe, très congestionné, est toujours augmenté de volume et les lésions sont toujours prédominantes dans la partie postérieure.

La rate est toujours fortement augmentée, quelquefois même doublée de volume et très congestionnée ; le parenchyme de couleur lie de vin présente à sa surface de nombreux tubercules arrondis, rarement confluents.

Le poumon paraît normal macroscopiquement ; la congestion d'un des poumons, qui se rencontre quelquefois, paraît due au décubitus de l'animal pendant l'agonie et après la mort.

Après les inoculations de spores de Champignons appartenant au genre *Rhizopus*, sous la peau de l'abdomen et sous la peau de la cuisse, les ganglions inguinaux et les ganglions mésentériques se trouvent congestionnés et augmentés de volume ; ils forment une masse dure qu'on isole facilement des organes voisins.

Les lésions péritonéales se manifestent par la présence d'une petite quantité de liquide et de quelques tubercules peu nombreux disséminés sur la séreuse. Cette séreuse est fréquemment congestionnée et marbrée de plaques rouges; dans certains cas même, on peut voir des adhérences s'établir au moyen de fausses membranes entre les viscères et le feuillet pariétal de la séreuse.

IV. - ÉTUDE MICROSCOPIQUE DES LÉSIONS

Si l'on examine au microscope des coupes pratiquées dans les organes malades, on constate que, au point de vue histologique, il n'existe que des différences d'ordre tout à fait secondaire entre les lésions produites par les différentes espèces de Champignons inoculés. Cette ressemblance des lésions tient à ce qu'on ne rencontre jamais d'organes reproducteurs du Champignon dans les organes examinés au microscope; le Cryptogame se présente toujours sous la forme de filaments plus ou moins enchevêtrés et de diamètre variable suivant les espèces, mais ne portant jamais de têtes fructifères.

J'étudierai d'abord le rein, parce que c'est l'organe qui est toujours atteint le premier et de la façon la plus intense. Sur des coupes faites suivant le plan médian, on voit que l'organe est presque complètement envahi par les filaments mycéliens. A un faible grossissement, les lésions les plus importantes apparaissent dans la substance corticale sous forme d'îlots plus ou moins grands et plus ou moins irréguliers. Si l'on regarde les mêmes îlots à un fort grossissement, on voit que la substance rénale a complètement disparu; le parenchyme est absolument méconnaissable, il est remplacé par un amas de noyaux qui affectent les formes les plus variées; ces noyaux sont caractérisés par une très grande affinité pour les colorants nucléaires, ils les absorbent d'une façon très intense et se détachent nettement au milieu de la préparation. La structure de ces noyaux ne ressemble en rien à celle des autres, on n'y constate pas la présence de filaments chromatiques, ce sont simplement des blocs plus ou moins irréguliers qui ont fixé en masse les matières colorantes. Leur polymorphisme peut les faire prendre au premier abord pour des leucocytes à noyau polymorphe. Ils forment le centre des tubercules et se détachent sur un fond granuleux, qui se colore facilement en jaune par l'orange tanique; on ne voit pas dans le protoplasma de lignes de démarca-

tion indiquant la division en cellules, c'est une simple plage protoplasmique au milieu de laquelle sont groupés les noyaux polymorphes. Quand on s'éloigne du centre de l'amas, apparaissent de nouveaux éléments qui deviennent plus nombreux à la périphérie ;



Fig. 12. — Coupe de rein de Lapin après inoculation de *Rhizopus equinus* z.-c., capillaire rempli d'hématies ; f, filaments mycéliens ayant pour point de départ une spore ; n, noyaux polymorphes.

ces éléments sont des noyaux arrondis ou ovalaires, ressemblant à ceux du parenchyme rénal ; ils sont colorés en violet clair et présentent à leur intérieur des granulations plus fortement colorées. Dans la substance corticale du rein, cette région du tubercule est

parfois caractérisée par la présence de cellules géantes, de diamètre souvent très considérable (50 à 55 μ), contenant des noyaux arrondis, rangés en cercle à la périphérie de la cellule ou réunis en amas à l'une des extrémités ; à l'extrême limite de la lésion, on voit encore quelques noyaux polymorphes infiltrant les tissus du rein, puis ils disparaissent graduellement et le parenchyme reprend son aspect normal ; il y a donc une transition assez marquée entre les parties malades et les parties saines.

Au centre de ces tubercules, on voit quelquefois des éléments parasitaires qui revêtent l'aspect de petits filaments plus ou moins contournés et ramifiés, ayant pour point de départ un petit corps sphérique ou ovoïde, qui n'est autre chose qu'une spore, ainsi que l'on peut s'en convaincre en mesurant ses dimensions au micromètre (fig. 12).

Dans la région des tubes urinifères, l'aspect n'est plus le même ; là on ne voit pas de lésions tuberculiformes, mais, en revanche, les filaments mycéliens sont très nombreux et très serrés, (fig. 13) ; on les voit se diriger longitudinalement dans la lumière des canaux du rein. De place en place, un de ces filaments émet un prolongement qui se dirige transversalement à angle droit et perfore la paroi, du canal pour se rendre dans le canal voisin, où il prolifère à son tour et s'entremêle avec d'autres filaments qui végètent déjà dans ce tube ou sont venus des tubes voisins ; la substance médullaire du rein est donc remplie d'un feutrage de filaments mycéliens. Dans la lumière des tubes urinifères et dans l'épaisseur de leurs parois on remarque constamment la présence de noyaux polymorphes fortement colorés, se détachant sur un fond de protoplasma granuleux sans cloisons cellulaires (fig. 13).

Après le rein, l'organe le plus malade est le foie ; il est toujours atteint, quelle que soit l'espèce du *Champignon* pathogène inoculé. Les lésions méritent d'être observées avec le plus grand soin, car ce sont elles qui permettent de comprendre le plus facilement la genèse des mycoses internes. A première vue, elles se présentent comme des tubercules d'un diamètre un peu plus considérable que ceux du rein (80 à 100 μ), disséminés plus ou moins régulièrement dans la substance du parenchyme. Ces tubercules ressemblent parfois à s'y méprendre à ceux de la tuberculose bacillaire ; ils forment une masse bien délimitée, enchâssée dans le tissu du foie.

Le protoplasma qui forme le fond de cette masse est moins coloré que celui des cellules hépatiques; sur ce fond se détachent un grand nombre de noyaux polymorphes et des fragments de noyaux fortement colorés, très semblables à ceux que j'ai décrits plus haut dans le rein; mais la lésion y est mieux délimitée. Elle est bien entourée d'une zone où les cellules hépatiques sont creusées de vacuoles et présentent des phénomènes de dégénérescence, seulement cette zone n'est formée que de deux ou trois ran-

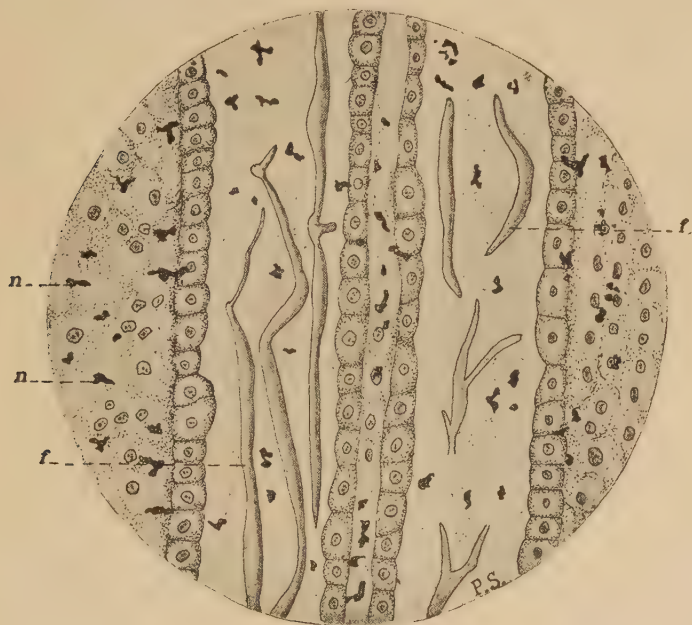


Fig. 13. — Coupe de rein de Lapin inoculé avec le *Rhizomucor parasticus*. — *f*, filaments mycéliens dans les tubes urinifères; *n*, noyaux polymorphes.

gées de cellules au maximum. En un point indéterminé de ce tubercule, on trouve une ou deux cellules géantes de même forme et de même structure que celles qui se rencontrent dans les lésions rénales; on pourrait donc prendre ces tubercules pour des tubercules d'origine bacillaire, si l'on ne trouvait dans quelques-uns de nombreux filaments mycéliens.

J'ai dit plus haut que c'est dans le foie que l'on peut le plus faci-

lement reconstituer l'histoire de la formation de ces tubercules et à ce sujet je ne puis que répéter en le résumant ce que j'ai dit avec M. Bodin dans un précédent mémoire (1). L'étude du mécanisme suivant lequel se forment ces lésions se fait plus aisément dans le foie, parce que la structure de cet organe est relativement simple et que ses éléments cellulaires sont de grande taille. Il faut prendre des foies d'animaux inoculés avec des espèces qui tuent rapidement ou bien sacrifier les animaux peu de temps après l'inoculation, par exemple après 24, 36, 48 ou 72 heures. On trouve alors, assez fréquemment, dans les capillaires du lobule hépatique, des spores qui

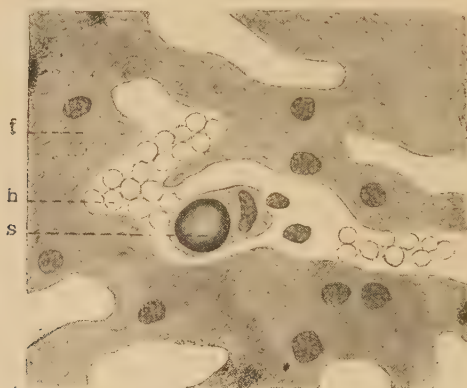


Fig. 14. — Foie de Lapin après inoculation de *Rhizopus equinus*. — *f*, cellules hépatiques ; *h*, hematics ; *s*, spore du Champignon dans le protoplasma d'une cellule géante mononucléée.

n'ont pas encore germé ou dont la germination est peu avancée (fig. 14). On remarque que ces spores, entraînées par le torrent circulatoire dans les vaisseaux du foie, s'arrêtent généralement dans un coude sur le trajet d'un capillaire. Supposons une spore arrêtée: elle provoque comme corps étranger une réaction défensive du côté des cellules endothéliales du vaisseau, qui peuvent jouer le rôle de phagocytes. Une ou plusieurs de ces cellules englobent la spore et se détachent de l'épithélium, les noyaux de ces cellules se multiplient plus ou moins rapidement et le tout constitue alors une cel-

(1) E. BODIN et P. SAVOURÉ, Recherches expérimentales sur les mycoses internes. *Archives de Parasitologie*, VIII, 1904.

lule géante (fig. 15). Si la spore englobée appartient à une espèce non pathogène, elle disparaîtra par phagocytose et tout rentrera dans l'ordre, après un temps plus ou moins long; si, au contraire elle appartient à une espèce pathogène, elle germera et produira un ou plusieurs filaments (fig. 16, c) en forme de tubes, de volume variable suivant les espèces : c'est le point de départ du mycélium qui, en se développant, envahira complètement la lumière du capillaire et fera subir au vaisseau une distension considérable. On voit alors les cellules hépatiques voisines de la cellule géante subir des altérations très profondes, quoique n'étant pas en contact immédiat

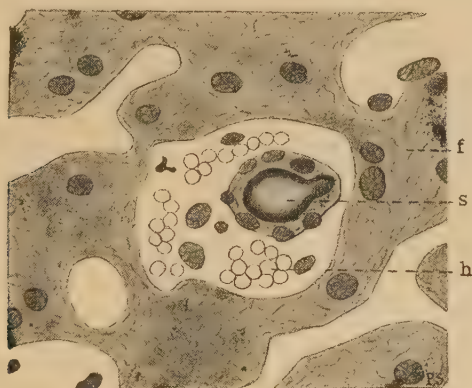


Fig. 15. — Foie de Lapin après inoculation de *Rhizopus equinus* α. - f, cellules hépatiques; h, hématies; s, spore du Champignon en voie de germination dans une cellule géante plurinucléée.

avec les filaments cryptogamiques : le protoplasma de ces cellules se creuse de vacuoles (fig. 16, b) qui s'agrandissent de plus en plus jusqu'à remplir presque en entier la cavité cellulaire. Les quelques parties de protoplasma sain qui subsistent sont reliées entre elles par des ponts protoplasmiques, réduits à l'état de simples filaments non granuleux et faiblement colorés en jaune par l'orange tannique; or, comme je l'ai dit plus haut, cette zone de dégénérescence périparasitaire se borne à deux ou trois couches de cellules au plus, ce qui prouve que les toxines du Champignon, s'il en secrète, ne diffusent pas loin du lieu où il végète; peut-être même, et c'est fort probable, mais difficile à prouver, ces lésions de dégénérescence sont elles dues

uniquement à l'action mécanique du Cryptogame, exerçant une pression trop considérable sur les éléments des tissus. Pendant que le protoplasma subit des modifications si profondes, le noyau, lui non plus, ne reste pas indifférent : il devient homogène et les diverses particularités de sa structure disparaissent ; on n'y distingue plus de filaments chromatiques ni de granulations, il fixe vivement les

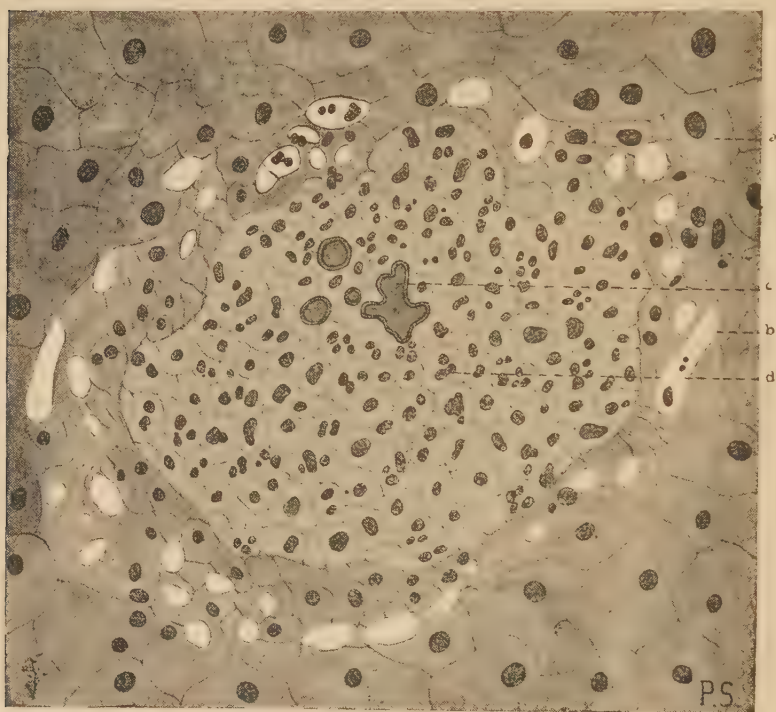


Fig. 16. — Foie de Lapin : tubercule mycosique après inoculation de *Rhizomucor parasiticus* α.-a, cellules hépatiques ; b, vacuoles de la zone de dégénérescence autour du tubercule ; c, organes du Champignon ; d, centre du tubercule.

colorants nucléaires et apparaît comme une masse uniformément colorée en bleu foncé par le bleu de Unna, puis il se fragmente en un nombre variable de morceaux plus ou moins irréguliers ; en un mot, il subit la dégénérescence du type caryorrhexis.

Dans la rate et les ganglions, les lésions sont toujours caractérisées par la présence de filaments mycéliens plus ou moins développés, ayant pour point de départ une spore ; autour du mycélium s'étend

une zone plus ou moins considérable, au niveau de laquelle la structure normale de l'organe est absolument détruite et méconnaissable. Les tissus sont remplacés par un amas d'éléments à noyaux fortement colorés et très polymorphes; ces noyaux se fragmentent souvent en morceaux très petits et irréguliers; à la périphérie, quand on approche de la région où le parenchyme tend à reprendre sa structure normale, on peut rencontrer des cellules géantes multinucléées.

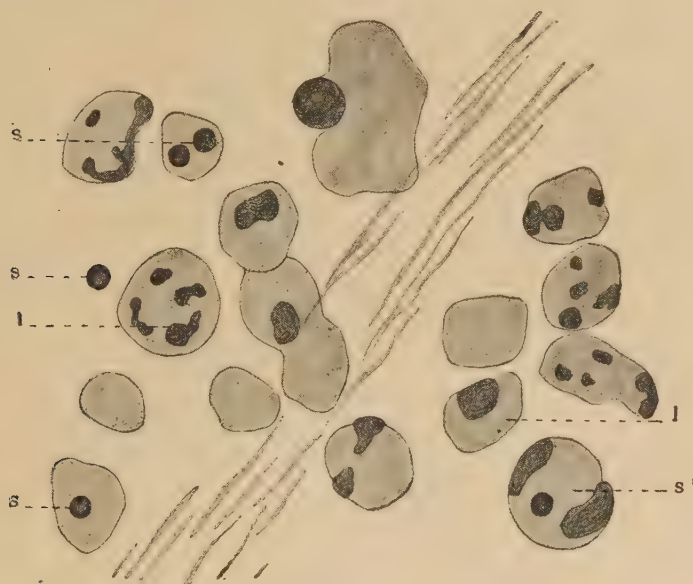


Fig. 17. — Pus d'abcès sous-cutané au point d'inoculation avec l'*Aspergillus niger* chez le Cobaye. — l, leucocytes ; s, spores d'*Aspergillus niger*.

Dans l'intestin, les lésions sont les mêmes, mais le nombre des éléments irréguliers et polymorphes est de beaucoup réduit; ce qui frappe le plus, c'est une congestion très active et une infiltration très abondante, prédominant dans la couche glandulaire, sous laquelle végètent de nombreux filaments mycéliens.

Quant au pus des abcès qui se forment au point des inoculations sous cutanées, lorsqu'on l'examine, après coloration, sur une lame de verre, on remarque qu'il est formé uniquement de leucocytes mono ou polynucléaires, dont quelques-uns ont englobé des spores.

Que l'espèce inoculée soit pathogène ou non, quelques spores, qui n'ont pas été phagocytées, apparaissent de-ci de-là dans le champ du microscope entre les éléments leucocytaires (fig. 17, s).

L'étude du liquide péritonéal est très importante, car elle permet de comprendre le mécanisme suivant lequel les spores inoculées se disséminent dans l'organisme. Il est facile, comme on le sait, de prélever aseptiquement une certaine quantité de liquide péritonéal sans sacrifier l'animal; on peut ainsi suivre heure par heure, ou même plus souvent, les phénomènes qui se produisent dans ce liquide.

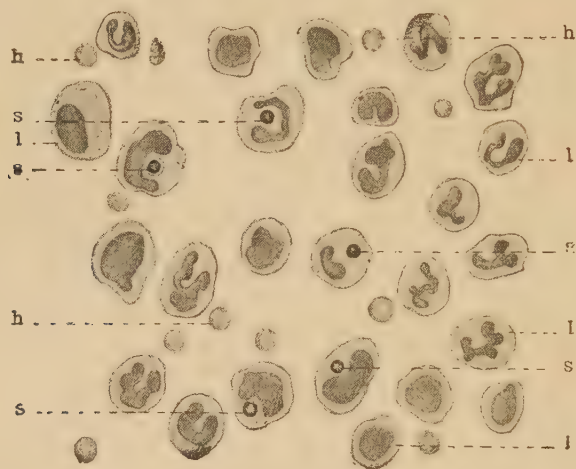


Fig. 48. — Liquide péritonéal de Cobaye, 22 heures après l'inoculation de spores d'*Aspergillus niger* α -h, hématies; l, leucocytes; s, spores englobées par les leucocytes.

On inocule donc, en même temps, plusieurs Cobayes dans la cavité péritonéale, les uns avec des spores des espèces pathogènes étudiées précédemment, et d'autres avec des spores provenant d'espèces reconnues généralement comme inoffensives : l'*Aspergillus niger* et le *Sterigmatocystis pseudonigra* par exemple. On observe le liquide péritonéal au bout de la première, de la deuxième et de la troisième heure, ensuite de quatre en quatre heures jusqu'au cinquième jour. Voici le résumé des observations que j'ai faites avec le professeur Bodin à ce sujet :

Pendant la première heure, le liquide péritonéal, très limpide

présente son aspect normal; au microscope, on ne trouve que quelques-unes des spores inoculées et un petit nombre de leucocytes mononucléaires. Cette leucocytose devient très abondante à partir de la troisième ou de la quatrième heure et se prolonge jusqu'au troisième jour environ (fig. 18).

Les éléments cellulaires que l'on trouve dans le liquide sont des leucocytes polynucléaires nombreux et quelques mononucléaires; jusqu'au deuxième jour, le nombre des mononucléaires augmente beaucoup et, au troisième jour, les mononucléaires et les polynucléaires sont en nombre sensiblement égal; puis la leucocytose diminue graduellement et, à la fin du troisième ou du quatrième jour, le liquide péritonéal reprend des caractères normaux aux points de vue macroscopique et microscopique.

Il est nécessaire de pousser l'examen plus loin, pour voir comment se comportent les leucocytes vis-à-vis des spores pathogènes et non pathogènes. Les phénomènes leucocytaires se passent de la même façon avec toutes les spores, de quelque nature qu'elles



Fig. 19. — Liquide péritonéal de Cobaye, une heure après l'inoculation de *Rhizomucor parasiticus*. Leucocytes ayant englobé des spores.

soient; peut-être cependant avec l'*Aspergillus fumigatus*, espèce très pathogène, la leucocytose est-elle moins abondante. La phagocytose, elle aussi, suit les mêmes phases avec toutes les spores; les leucocytes traitent ces spores comme des corpuscules inertes, des grains de charbon par exemple. Au début de la période de leucocytose (fig. 19), les spores sont d'abord englobées par les polynucléaires ou microphages; plus tard, lorsque les gros mononucléaires ou macrophages deviennent plus abondants, il n'est pas rare de les voir phagocyter quelques spores; ensuite, tout-à fait à la fin de la période de leucocytose, lorsque les leucocytes disparaissent rapidement et que le liquide péritonéal redevient normal, les macrophages englobent fréquemment des polynucléaires ayant

eux-mêmes déjà phagocyté une spore (fig. 20). Quand les leucocytes, de quelque nature qu'ils soient, ont accompli leur rôle phagocytaire, ils rentrent dans la circulation et transportent ainsi les spores, comme des corps inertes, dans les viscères de l'animal. Mais ces spores n'ont pas perdu leur faculté germinative; on peut s'en rendre compte en sacrifiant des animaux inoculés avec des spores pathogènes et non pathogènes, au moment où la leucocytose péritonéale a cessé d'exister : des fragments des viscères sont prélevés



Fig. 20. — Liquide péritonéal de Cobaye, 38 heures après l'inoculation d'*Aspergillus niger*. *a.*—*a.*, macrophage ayant englobé une spore; *b.*, *c.*, macrophages ayant englobé des microphages; *d.*, macrophage ayant englobé un microphage contenant une spore.

aseptiquement, après cautérisation au fer rouge de la surface et ensemencés : ils donnent toujours des cultures positives. Ce n'est que plus tard que les spores non pathogènes disparaissent de l'économie; en effet, comme elles se trouvent dans des conditions de température défavorables, elles ne peuvent résister à l'action des cytales sécrétées par les phagocytes qui les digèrent complètement. Les spores pathogènes, au contraire, qui sont dans de bonnes conditions de tem-

pérature, sont phagocytées en bien moins grand nombre et celles qui germent suffisent pour produire de graves désordres et les lésions décrites précédemment.

En somme, il ressort des faits précédents que les divers parasites que j'ai étudiés : *Mucor*, *Rhizopus*, *Rhizomucor*, *Aspergillus*, déterminent, dans les organes et tissus des animaux sensibles, des lésions tuberculiformes caractérisées par la dégénérescence de ces tissus et organes, vraisemblablement sous l'influence des sécrétions parasitaires qui ne semblent pas diffuser beaucoup autour des éléments cryptogamiques et, d'autre part, par l'afflux de cellules phagocytaires d'origine diverse, parmi lesquelles il faut noter la présence, en un certain nombre de cas, de cellules géantes. Il est possible, en outre, de préciser, jusqu'à un certain point du moins, le mécanisme de la

résistance des animaux à divers Champignons et de montrer que, dans ces cas, le rôle important revient à la phagocytose par les cellules endothéliales des vaisseaux.

Aussi ne puis-je donner de meilleure conclusion à cette étude que celle que nous avons formulée, le professeur Bodin et moi, dans une note précédente sur ce sujet, c'est-à-dire que, pour les Champignons comme pour les Bactéries, le problème de l'immunité doit recevoir la même solution : celle qui a été donnée et soutenue par Metshnikov et ses élèves.

V. — INOCULATIONS EXPÉRIMENTALES

Observations faites sur les animaux inoculés.

1^o MUCOR RACEMOSUS.

Les inoculations intraveineuses et intrapéritonéales que j'ai faites au Lapin et au Cobaye avec les spores de ce Champignon n'ont jamais provoqué aucun phénomène morbide.

2^o MUCOR CORYMBIFER.

Inoculation au Lapin. Lapin I. — Inoculé dans la veine marginale externe de l'oreille avec 2^{cc} de suspension de spores dans l'eau physiologique. spores provenant d'une culture sur carotte âgée de six jours. Ce *Mucor corymbifer* représentait la variété type et provenait de l'Institut Pasteur. Le sixième jour après l'inoculation, l'animal est pris de phénomènes convulsifs avec contracture du cou et déviation latérale de la tête; il meurt dans la nuit et l'autopsie n'est faite que le lendemain. Le foie est gros, mais il présente peu de lésions, sauf en quelques points où on aperçoit de petites plaques jaunâtres, irrégulières, à peine apparentes. La rate et l'intestin sont d'apparence normale. Les reins sont très malades, gros, parsemés de lésions très nombreuses, en forme de plaques blanchâtres non saillantes et pénétrant sous forme de traînées dans la substance corticale.

3^o MUCOR REGNIERI.

Inoculation au Lapin. Lapin I. — L'inoculation a été faite de la même manière que pour l'animal précédent, avec des spores de *Mucor Regnieri*. L'animal fut pris de convulsions le troisième jour après l'inoculation et mourut pendant la nuit. A l'autopsie, faite le lendemain matin, on trouve un foie gros et congestionné, mais sans lésions apparentes. La rate, l'intestin et le poumon paraissent normaux. Les reins sont les seuls organes qui paraissent très

altérés macroscopiquement : tous les deux présentent, sur chaque face, environ vingt-cinq à trente petits tubercules gris jaunâtre. A la coupe, on remarque que ces tubercules ne pénètrent pas en forme de coins dans le parenchyme. Quelques-uns cependant se trouvent au milieu de la substance corticale.

4° MUCOR TRUCHISI.

Inoculation au Lapin. Lapin I. — L'animal est inoculé, comme précédemment, avec des spores de *Mucor Truchisi*. L'autopsie donne les mêmes résultats que celle du Lapin inoculé avec le *Mucor Regnieri*; cependant les lésions rénales sont encore plus accentuées, car on constate un plus grand nombre de trainées se dirigeant des lésions périphériques vers le centre de l'organe; de plus, les ganglions mésentériques sont gros et rougeâtres par places.

5° RHIZOPUS EQUINUS.

Inoculation au Lapin. Lapin I. — L'animal reçoit dans la veine marginale postéro-externe de l'oreille 3^{cc} d'émulsion de spores de *Rhizopus equinus* dans l'eau physiologique; ces spores provenaient d'une culture sur carotte âgée de cinq jours. Le matin du quatrième jour après l'inoculation, l'animal présente des phénomènes convulsifs, qui augmentent dans la matinée et amènent la mort dans l'après-midi.

A l'autopsie, on constate que le foie est gros, congestif; il existe quelques petits points blancs, tuberculiformes, gros comme une tête d'épingle, bien ronds et isolés à la surface ou dans la profondeur du parenchyme hépatique.

La rate ne présente pas de lésions macroscopiques. Les reins sont gros, un peu congestionnés; ils sont couverts de petits tubercules non saillants, analogues à ceux du foie, toujours bien isolés et régulièrement disséminés : à la coupe, chaque tubercule répond à une trainée blanchâtre pénétrant en coin dans la substance corticale. Dans la région des ganglions mésentériques, on trouve un paquet dur, bosselé, avec de nombreux petits tubercules blancs. L'intestin paraît indemne. Les poumons sont congestionnés, sans lésions apparentes. Des fragments de foie et de rein ont donné des rétrocultures positives.

Inoculations au Cobaye. Cobaye I. — L'animal reçoit en injection intrapéritonéale 2^{cc} d'eau physiologique tenant en suspension des

spores provenant d'une culture sur pomme de terre âgée de quatre jours. Six jours après, on trouve l'animal à l'agonie, couché sur le côté, en proie à des convulsions violentes. L'autopsie est faite immédiatement après la mort. La séreuse péritonéale est d'apparence normale, ainsi que les poumons. Les reins présentent deux ou trois tubercules blancs assez gros, se prolongeant dans la substance corticale. Le foie est très malade ; il est volumineux et présente de petits tubercules blanchâtres confluents, ressemblant aux lésions de la tuberculose bacillaire. La rate est un peu grosse, mais paraît normale. Les rétrocultures de foie et de rein ont été positives et pures.

Cobaye II. — L'animal reçoit en injection sous-cutanée 2^{cc} d'émulsion de spores provenant d'une rétroculture sur moût de bière âgée de vingt-et-un jours. L'animal n'a jamais présenté aucun symptôme et a continué à se bien porter.

Cobaye III. — L'animal, inoculé dans les mêmes conditions que le précédent, s'est comporté d'une façon identique.

Cobaye IV. — L'animal reçoit une injection sous-cutanée de 2^{cc} de teinture d'opium, puis je lui injecte dans le péritoine 2^{cc} d'eau physiologique tenant en suspension de nombreuses spores provenant de la même rétroculture qui avait servi à inoculer les Cobayes II et III. Deux jours après, nouvelle injection sous-cutanée de 1^{cc} de teinture d'opium. Le quatrième jour après l'inoculation, l'animal meurt dans l'après-midi. On constate une perforation du côlon grande comme une lentille, avec péritonite généralisée. Le foie est gros, sa surface est recouverte d'un semis de petits tubercules grisâtres. La rate est énorme et farcie de petits tubercules blanchâtres, confluents en certains endroits. Les reins ne présentent pas de lésions macroscopiques. Les poumons sont congestionnés. Des fragments de foie et de rate,ensemencés sur moût de bière et sur bouillon, donnent des rétrocultures positives et pures.

Cobaye V. — L'animal reçoit une injection sous-cutanée de 1^{cc} de teinture d'opium ; je lui injecte ensuite dans le péritoine 2^{cc} d'émulsion de spores dans l'eau physiologique, spores provenant aussi de la même rétroculture que précédemment. Deux jours après, nouvelle injection sous cutanée de teinture d'opium, mais cette fois 0^{cc},5 seulement. L'animal est trouvé mort le sixième jour après l'inoculation. A l'ouverture de la cavité peritonéale, on

constate la rougeur de la séreuse qui paraît épaissie; il y a quelques fausses membranes, mais pas d'exsudat liquide, ni de perforation intestinale.

Le foie est gros avec, en un ou deux points, un certain nombre de petits tubercules blancs, formant un semis discret. La rate est grosse, avec des points blanchâtres assez abondants. Les reins présentent chacun deux ou trois points tuberculiformes, de couleur blanche et pénétrant en coin dans la substance corticale. Le poumon est congestionné. Des fragments de foie et de rate, ensemencés sur moût de bière et sur bouillon, ont donné des rétrocultures positives et pures.

Cobayes VI et VII. — Ces deux animaux ont été inoculés sous la peau de la cuisse avec 1^{cc} d'émulsion de spores provenant d'une rétroculture de foie de Cobaye âgée de quatorze jours. A aucun moment, les animaux n'ont présenté de symptômes morbides.

Cobaye VIII. — L'animal est inoculé sous la peau de la cuisse avec 2^{cc} d'eau physiologique contenant un grand nombre de spores d'une rétroculture âgée de vingt jours, après avoir reçu une injection sous-cutanée de 2^{cc} de teinture d'opium. Le deuxième jour, l'animal semblait bien portant; cependant, on le trouve mort le matin du troisième jour. A l'autopsie, on constate un œdème gélatiniforme considérable, au point d'inoculation et à la racine de la cuisse; le paquet adipeux de l'aîne est tuméfié. Les ganglions inguinaux sont gros et congestionnés. Le péritoine présente un épanchement quelque peu abondant. L'intestin est congestionné en plusieurs endroits, avec de petits points hémorrhagiques. Le foie, la rate et les reins ne présentent pas de lésions macroscopiques.

6^o RHIZOPUS EQUINUS VAR α .

Inoculation au Lapin. Lapin I. — L'animal est inoculé dans la veine marginale postéro-externe de l'oreille, avec 3^{cc} d'eau physiologique contenant de nombreuses spores provenant d'une culture sur carotte âgée de cinq jours. Le cinquième jour après l'inoculation, l'animal est pris de convulsions dans la matinée, puis apparaissent des contractures, enfin il meurt dans l'après-midi. L'autopsie est faite immédiatement après la mort. Le foie est gros, très congestionné; le parenchyme hépatique crie sous le scalpel et se déchire facilement.

Les lésions sont beaucoup plus nombreuses en profondeur qu'à la surface. La rate est couverte de points blancs, gros comme des têtes d'épingles, disséminés et jamais confluent. Les reins sont un peu congestionnés, couverts de tubercules blancs non saillants et non confluent, se prolongeant en trainées dans la substance du rein. Au niveau des ganglions mésentériques, on trouve un paquet dur, couvert de petits points blancs tuberculiformes. L'intestin n'a pas de lésions visibles à l'œil nu ; les poumons non plus, cependant ils sont un peu congestionnés. Des fragments de foie, de rate et de rein, ensemencés sur moût de bière, ont donné des rétrocultures positives et pures.

Inoculations au Cobaye. Cobaye I. — L'animal reçoit dans la cavité péritonéale 2^{cc} d'eau physiologique tenant en suspension des spores provenant d'une culture sur moût de bière à 3 % de maltose âgée de six jours. Sept jours après, l'animal est en proie à de violentes convulsions et succombe avec les mêmes symptômes que le Cobaye I, inoculé avec le *Rhizopus equinus*. L'autopsie, faite immédiatement après la mort, donne les résultats suivants : Le péritoine présente quelques tubercules blancs. Les reins sont de couleur pâle et présentent huit ou dix tubercules blancs bien limités, pénétrant en coins dans la substance corticale. Le foie est volumineux ; à sa surface on voit de petits tubercules blancs confluent, donnant l'impression de lésions tuberculeuses par Bacille de Koch ; ces lésions, en somme peu marquées (elles existent en un ou deux points seulement), sont moins graves que celles occasionnées par le *Rhizopus equinus*. La rate et les poumons n'ont pas de lésions macroscopiques. Des fragments, prélevés sur les organes malades et ensemencés sur moût de bière, ont donné des rétrocultures positives et pures.

Cobaye II. — Avec une seringue de Pravaz contenant 2^{cc} d'eau physiologique émulsionnée de nombreuses spores, provenant d'une rétroculture sur moût de bière âgée de dix huit jours, je fais une inoculation à l'animal sous la peau de l'abdomen. Le Cobaye meurt dans la matinée du septième jour après l'inoculation. L'autopsie faite immédiatement, prouve que les lésions portent sur la cavité abdominale et sur les viscères qu'elle contient. Au point d'inoculation, il n'y a aucune lésion, sauf la brûlure produite par le thermocautère pour stériliser le point à inoculer. Le foie est très atteint, augmenté de volume, parsemé de marbrures jaunâtres, pénétrant

dans le parenchyme et lui donnant l'aspect d'un foie farci de noyaux cancéreux. La rate, très volumineuse, elle aussi, présente également des marbrures et des îlots blanc jaunâtre farcissant sa substance. Le volume des reins est un peu augmenté; en trois ou quatre points, on trouve des lésions jaunâtres tuberculiformes, peu saillantes, pénétrant en coin dans la substance corticale. Dans la cavité péritonéale, on trouve un exsudat rougeâtre peu abondant; partout la séreuse est épaissie et de couleur rosée; sur le péritoine diaphragmatique, on trouve quelques points blanchâtres tuberculiformes, formant un semis discret. L'intestin grêle paraît peu malade; le gros intestin, au contraire, est très atteint; il est rouge brun dans toute son étendue et très friable, avec des plaques de couleur un peu jaune, faisant penser aux marbrures du foie. Les poumons sont d'apparence normale. Les rétrocultures de foie, de rate et de rein, faites sur moût de bière, ont été positives et pures.

Cobayes III et IV. — Les animaux sont inoculés de la même façon que le précédent, mais après une injection hypodermique de 2^{cc} de teinture d'opium. Ils sont trouvés morts, le matin du huitième jour après l'inoculation. A l'autopsie, on voit la cavité péritonéale remplie d'une sérosité abondante; il y a aussi quelques exsudats membraneux. La rate n'est nullement augmentée de volume et paraît normale macroscopiquement. Le foie est un peu volumineux, très congestionné, mais les lésions sont peu nombreuses, sauf sur le bord inférieur du lobe postérieur, où il y a trois ou quatre îlots blanc jaunâtre, formés de petits tubercules confluent, du volume d'une tête d'épingle. L'intestin, les poumons et les reins paraissent normaux; cependant le poumon et le rein du côté droit sont congestionnés; cette congestion est probablement due au décubitus de l'animal pendant l'agonie et après la mort. La rétroculture de foie sur moût de bière a été contaminée par des Bactéries et le Champignon n'a pas poussé.

Cobaye V. — L'animal est inoculé sous la peau avec 2^{cc} d'émulsion de spores, après avoir reçu en injection hypodermique 1^{cc} seulement de teinture d'opium. Le neuvième jour après l'inoculation, l'animal meurt. La cavité péritonéale contient une sérosité abondante; des adhérences membraneuses existent entre le péritoine, la rate, le lobe postérieur du foie et l'épiploon. La rate est très

volumineuse, farcie d'ilots marbrés d'un blanc jaune. Le foie est gros et congestionné; dans le lobe postérieur, il y a quelques lésions formées de tubercules confluents, gros comme des têtes d'épingles. Les reins sont volumineux; en quelques points, on voit des lésions tuberculiformes, jaunâtres, saillantes, pénétrant en coin dans la substance corticale. Au milieu du mésentère, il y a une énorme masse de ganglions indurés. La partie de la vessie recouverte par le péritoine présente quelques lésions tuberculiformes. Le poumon paraît sain. Les rétrocultures de foie et de rein ont été positives et pures.

Cobayes VI et VII. — Ces deux animaux ont été inoculés sous la peau de la cuisse avec 2^{cc} d'eau physiologique contenant de nombreuses spores, provenant d'une rétroculture de rein de Cobaye âgée de dix jours. Les animaux sont toujours restés bien portants.

Cobaye VIII. — L'inoculation intra-péritonéale est faite avec 2^{cc} d'eau physiologique tenant en suspension des spores provenant d'une culture sur moût de bière âgée de dix-huit jours. L'animal meurt sept jours après. Le foie est gros, avec des lésions très marquées, parsemé de marbrures jaunâtres, étendues, pénétrant dans la profondeur du parenchyme. Sur la rate, les lésions ont un aspect tuberculiforme; elles existent dans toute l'étendue de la surface de l'organe, qui est peu augmenté de volume. Les reins sont gros; le rein droit porte à la partie supérieure une large plaque blanche paraissant n'intéresser que la superficie de l'organe; à la coupe, on ne voit pas de lésions macroscopiques. L'intestin et les ganglions mésentériques semblent normaux. Les poumons sont congestionnés; le poumon gauche présente à la base une plaque blanche superficielle.

7^o RHIZOMUCOR PARASITICUS.

Inoculations au Lapin. Lapin I. — Un Lapin de forte taille est inoculé dans la veine marginale postéro-externe de l'oreille avec 1^{cc} de solution physiologique contenant en suspension un grand nombre de spores, provenant d'une culture sur carotte âgée de quatre jours. Les trois premiers jours après l'inoculation, l'animal ne présente rien d'anormal; le quatrième jour, l'animal ne mange pas; le cinquième jour, à dix heures du matin, il est à l'agonie et reste couché sur le côté: l'œil est terne, les pattes sont agitées de mouve-

ments convulsifs, il est incapable de se relever. A deux heures après-midi, il ne réagit plus quand on l'effraye en frappant du pied le sol autour de lui ; enfin surviennent des convulsions, puis la mort. L'autopsie est faite immédiatement : le foie est gros et congestionné ; en deux ou trois points, on observe un semis de nodules jaunâtres, très petits et superficiels. La rate présente quelques petits tubercules disséminés, gros comme une tête d'épingle. Les reins présentent des lésions très marquées ; l'un d'eux pèse 30 gr. 50 ; l'organe est recouvert de petits tubercules miliaires confluent en certains points et entre lesquels on trouve des zones rougeâtres. Le lobe inférieur du poumon gauche présente quelques petits points tuberculiformes non saillants. Le cerveau et le bulbe ne présentent aucune lésion macroscopique.

Lapin II. — Un Lapin de forte taille reçoit dans la cavité péritonéale une injection de 4^{cc} de solution physiologique contenant en suspension des spores de *Rhizomucor parasiticus* provenant d'une culture sur carotte âgée de quatre jours. Les jours suivants, rien d'anormal ne se produit et l'animal continue à se bien porter. Trente jours après, je reprends le même Lapin et je lui injecte dans le péritoine 6^{cc} d'émulsion de spores dans l'eau physiologique. L'animal meurt six jours après. A l'autopsie, on constate, sur toute la surface de l'intestin, la présence de lésions diffuses, blanchâtres, en forme de petits points, d'un millimètre environ de diamètre. Le foie est gros, congestionné ; les tubercules sont peu abondants, sauf dans le lobe postérieur. Sur la rate, les lésions sont plus discrètes. Les reins sont gros, congestionnés et présentent de nombreux tubercules. Sur le poumon, on ne constate aucune lésion macroscopique.

Lapin III. — Un Lapin de taille moyenne reçoit en inoculation intraveineuse un demi-centimètre cube d'eau physiologique, chargée de spores de *Rhizomucor parasiticus* provenant d'une rétro-culture de foie de Lapin, sur moût de bière à 30/0 de maltose, âgée de seize jours. L'animal meurt le troisième jour dans la soirée ; l'autopsie n'est faite que le lendemain, à trois heures de l'après midi. Le foie est gros, congestionné ; à la surface, on voit de-ci de-là quelques points blancs gros comme des têtes d'épingles. La rate paraît normale à la coupe. Les reins sont augmentés de volume et présentent de nombreux tubercules à la surface ; on constate que ces tubercules, de couleur blanchâtre et non saillants, pénètrent en

traînées dans la substance de l'organe. Les poumons paraissent sains, cependant le poumon droit présente dans sa partie médiane une lésion ecchymotique de couleur foncée.

Lapin IV. — Un Lapin pesant 1 kg. 320 gr. reçoit une injection sous-cutanée de 3^{cc} de teinture d'opium, puis dans un autre point du corps une inoculation sous-cutanée de 2^{cc} d'émulsion de spores dans l'eau physiologique, provenant d'une culture de *Rhizomucor parasiticus* sur moût de bière âgée de neuf jours. Le troisième jour, nouvelle injection de 2^{cc} de teinture d'opium. Le sixième jour, l'animal présente, au point d'inoculation, un noyau induré de la grosseur d'une noisette; le septième jour, le nodule semble avoir diminué de grosseur et de consistance. Le quinzième jour, le nodule est excisé: il est formé par un abcès contenant du pus extrêmement épais, de couleur jaunâtre et de consistance caséeuse.

Le pus estensemencé aseptiquement: 1^o sur gélose glycinée, 2^o sur bouillon de bœuf. Les rétrocultures ont été positives, et comme le bouillon ne s'est pas troublé, c'est une preuve que le pus était amicrobien et ne contenait que des globules blancs et des spores du Champignon. Six jours après, l'animal est atteint de paralysie avec contractures; ces symptômes disparaissent rapidement. L'animal a été sacrifié, mais l'autopsie n'a pas été faite.

Lapin V. — Un Lapin pesant 1 kg. 340 gr. a été inoculé de la même manière que le précédent, sauf que le sixième jour et le quinzième jour il reçoit d'abord 2^{cc}, puis 5^{cc} de teinture d'opium en injection sous-cutanée. Le nodule de pus évolue de la même manière jusqu'au quinzième jour; alors on trouve deux nodules au lieu d'un. Le vingt et unième jour, l'animal est sacrifié, mais cette fois l'autopsie est faite. Le foie, la rate et le poumon sont indemnes; cependant le foie présente des lésions de coccidiose qui ont été diagnostiquées à l'examen microscopique. Les nodules de pus sont excisés; et le pus,ensemencé sur moût de bière et sur bouillon, de la même façon que précédemment, donne des rétrocultures positives et pures.

Lapin VI. — L'animal est inoculé sous la peau de la cuisse, après cautérisation au thermocautère du point d'inoculation, avec 2^{cc} d'émulsion de spores provenant d'une culture âgée de douze jours. Le septième jour, l'animal meurt de coccidiose, sans présenter la moindre induration au point d'inoculation.

Inoculations au Cobaye. Cobaye I. — Un Cobaye est inoculé dans la cavité péritonéale avec 2^{cc} d'eau physiologique tenant en suspension des spores provenant d'une culture sur tige de chou âgée de huit jours.

L'animal paraît bien portant pendant quatre jours, puis meurt. A l'autopsie, on constate que le péritoine est rouge, congestionné, mais ne présente pas d'exsudats. Le foie est gros, rouge brun, sans tubercules visibles à l'œil nu. La rate est un peu grosse, sans lésions macroscopiques. Le rein est gros, congestionné, sans tubercules visibles. Le poumon ne présente aucune lésion.

Cobaye II. — L'animal reçoit dans la cavité péritonéale 2^{cc} d'émulsion de spores de *Rhizomucor parasiticus*. Il est trouvé mort le matin du sixième jour après l'inoculation. A l'autopsie, la séreuse péritonéale ne présente pas de lésions. Le foie est gros, sans lésions tuberculiformes, sauf un seul petit point blanchâtre à la surface. La rate est volumineuse et présente une grande quantité de points blanchâtres translucides, très petits. Le rein gauche est gros et complètement recouvert de petites lésions blanchâtres, irrégulières, alternant avec de petits îlots rougeâtres, représentant la substance saine; à la coupe, on voit des trainées blanchâtres en forme de coin, pénétrant dans la substance corticale et ayant pour point de départ les lésions de la surface. Le rein droit paraît sain à sa partie supérieure, mais présente les mêmes lésions qu'à gauche à sa partie inférieure. Les poumons sont indemnes.

Cobaye III. — A onze heures du matin, l'animal reçoit dans le péritoine 2^{cc} de bouillon stérilisé et à quatre heures de l'après-midi 2^{cc} d'émulsion de spores dans l'eau physiologique. Le matin du sixième jour, on trouve l'animal mort. A l'autopsie, on constate la présence d'un liquide péritonéal abondant et d'une grande quantité d'exsudats à la surface du foie, qui est très gros et présente de nombreux tubercules très petits. On voit sur la rate quelques tubercules disséminés. Les reins sont augmentés de volume, mais n'ont pas de lésions macroscopiques, de même que l'intestin et les poumons.

Inoculation au Chien. — Lucet indique que le *Rhizomucor parasiticus* n'est pas pathogène pour le Chien. J'ai voulu voir s'il n'était pas possible d'obtenir des lésions chez cet animal, en accompagnant l'inoculation d'une injection de teinture d'opium. Le Chien suppor-

tant très bien la teinture d'opium : j'en injecte 12^{cc} sous la peau d'un animal du poids de 16 kg.; puis j'inocule dans la saphène droite 10^{cc} d'eau physiologique tenant en suspension un grand nombre de spores de *Rhizomucor parasiticus*, provenant d'une rétroculture sur moût de bière âgée de onze jours. L'animal n'a jamais présenté aucun symptôme morbide : il a vécu plusieurs mois et a été enfin sacrifié pour une expérience de physiologie. L'autopsie n'a révélé aucune lésion viscérale.

8° ASPERGILLUS FUMIGATUS.

Inoculation au Cobaye. — L'animal recoit dans le péritoine 2^{cc} d'eau physiologique tenant en suspension des spores d'une culture sur moût de bière âgée de quatre jours. L'animal est trouvé mort, le matin du neuvième jour après l'inoculation. A l'autopsie, on constate que toute la séreuse péritonéale est congestionnée. Le foie est augmenté de volume, avec quelques petits points blanchâtres disséminés à sa surface. Les reins sont gros et congestionnés. Les lésions se présentent sous forme de tubercules de couleur blanche, pénétrant dans la substance de l'organe et ressemblant aux lésions produites par le *Rhizomucor parasiticus*. La rate et le poumon ne présentent pas de lésions macroscopiques.

9° ASPERGILLUS ORYZÆ.

Inoculation au Lapin. — J'injecte dans la veine marginale postérieure de l'oreille de l'animal 2^{cc} d'émulsion de spores provenant d'une culture âgée de trente-huit jours. Quatre jours après, l'animal ne mange plus; dans l'après-midi, il présente quelques phénomènes convulsifs; il meurt à huit heures du soir. L'autopsie n'est faite que le lendemain matin. Le foie est gros, avec quelques petites lésions peu nombreuses, de couleur jaunâtre et tuberculiformes. La rate, l'intestin et le poumon ne présentent rien d'anormal à l'examen macroscopique. Les reins sont couverts d'un semis de points jaunes très serrés et très petits qui, à la coupe, se continuent dans la substance corticale sous forme de fines traînées blanc jaunâtre.

10° ASPERGILLUS SULPHUREUS.

Inoculation au Lapin. — Deux centimètres cubes d'émulsion de spores d'une culture âgée de trente-huit jours sont injectés dans

la veine de l'oreille d'un Lapin de forte taille. Dès le lendemain, l'animal ne mange pas; le matin du quatrième jour après l'inoculation, il est pris de phénomènes convulsifs violents portant sur les membres et sur le globe oculaire, prédominant d'un côté et se produisant par crises qui se renouvellent à quelques minutes d'intervalle. En dehors des crises, il persiste de la contracture musculaire avec opisthotonos. Dans l'après-midi, les convulsions augmentent de violence, l'animal a des soubresauts qui le retournent complètement; les crises deviennent de plus en plus nombreuses et de plus en plus rapprochées jusqu'à quatre heures de l'après-midi, heure à laquelle l'animal est sacrifié.

L'autopsie est faite immédiatement. Le foie est un peu gros et présente quelques petits points jaunâtres tuberculiformes, peu nombreux, enchâssés dans le parenchyme et plus visibles à la coupe qu'à la surface. La rate, l'intestin et le poumon ne présentent pas de lésions à l'œil nu. Les reins ont l'air normaux; cependant le rein droit présente des trainées et des petits points blancs, légèrement teintés de jaune, d'aspect tuberculiforme, très nets, mais peu nombreux.

TABLE

	Pages
INTRODUCTION.....	7
I. — Morphologie.....	9
II. — Étude biologique.....	26
III. — Étude des champignons dans leur vie parasitaire.....	49
IV. — Étude microscopique des lésions.....	52
V. — Inoculations expérimentales (observations faites sur les animaux inoculés).....	64

Vu : *le Président de la thèse,*

R. BLANCHARD.

Vu : *le Doyen,*

M. DEBOVE.

Vu et permis d'imprimer,

Le Vice-Recteur,

LIARD.

ÉCOLE PROFESSIONNELLE D'IMPRIMERIE

à Noisy-le-Grand (Seine-et-Oise).
